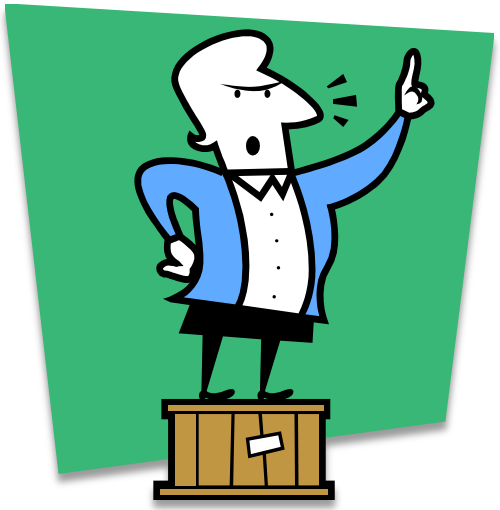
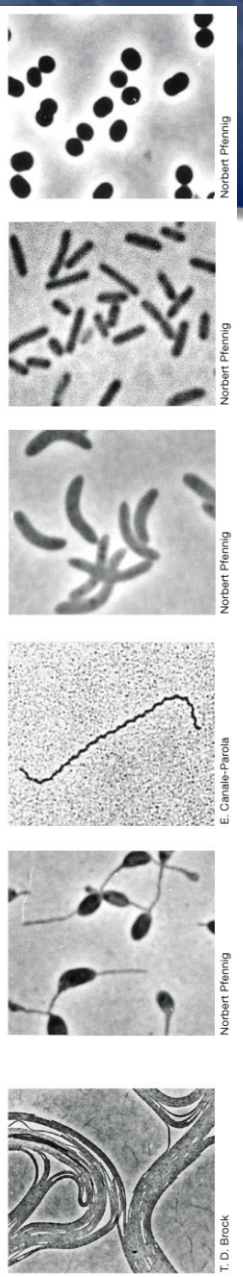
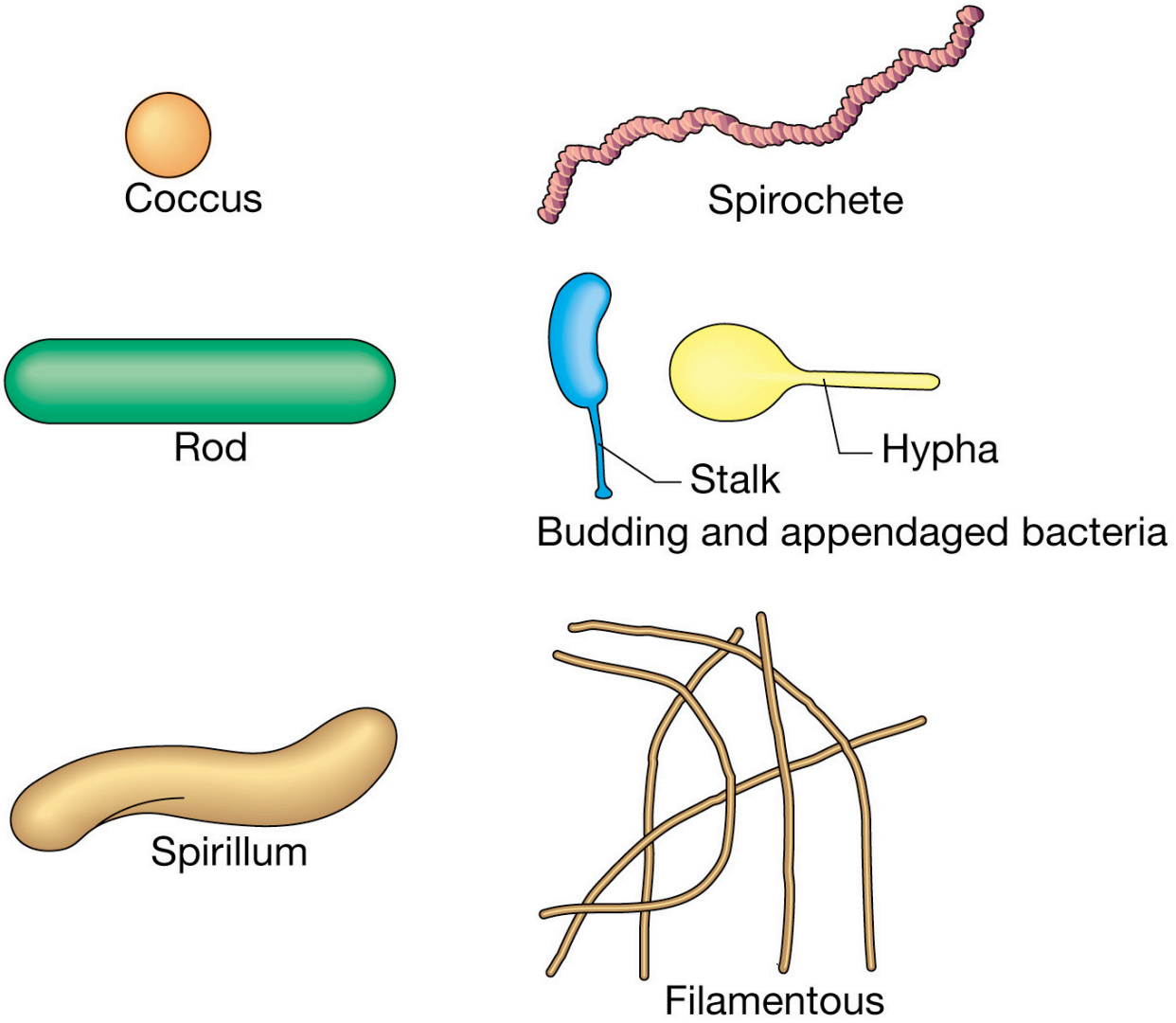
Thema der Vorlesung

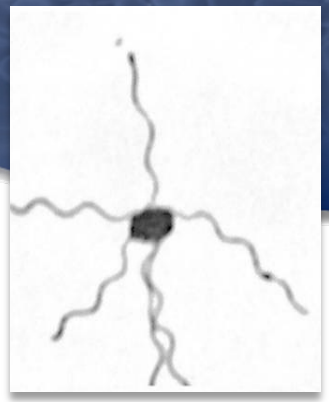


Zellformen
Struktur
Lipide bei Bakterien und Archaea
Zellwand!

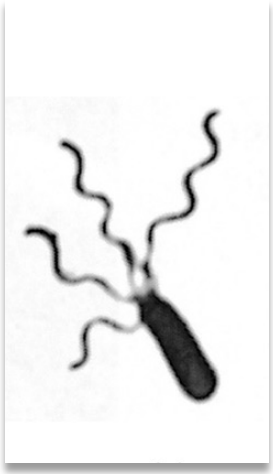
…. Dann: Wachstum/Nährstoffe etc.


Norbert Pfennig
Norbert Pfennig
Norbert Pfennig
E. Canale-Parola
Norbert Pfennig
T. D. Brock


Coccus
Spirochete
Rod
Stalk
Hypha
Budding and appendaged bacteria
Spirillum
Filamentous



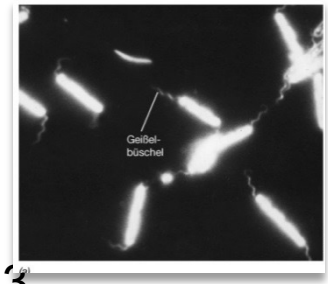
***peritrich*: Viele Flagellen sind gleichmäßig über die Zelloberfläche verstreut**



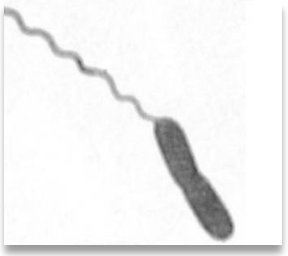
***polytrich-bipolar*: Die Flagellen stehen in zwei gegenüberliegenden Gruppen an den Zellpolen**

***polytrich-monopolar*: Die Flagellen stehen in einer Gruppe an einem der Zellpole (auch als *lophotrich* bezeichnet)**

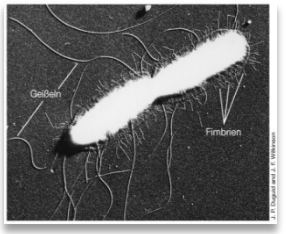
***amphitrich*: Die Zelle hat nur zwei Flagellen, die an gegenüberliegenden Zellpolen stehen**

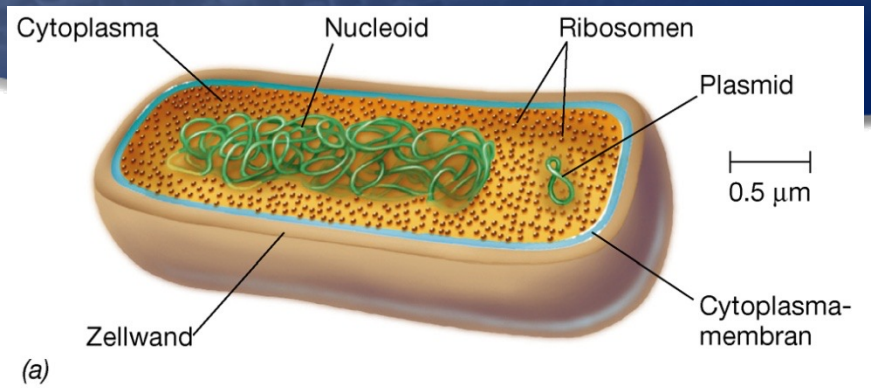


***monotrich*: Die Zelle hat nur eine einzige Flagelle**
lateral, seitliche Begeißelung: Flagellen stehen seitlich, nicht an den Polen der Zelle

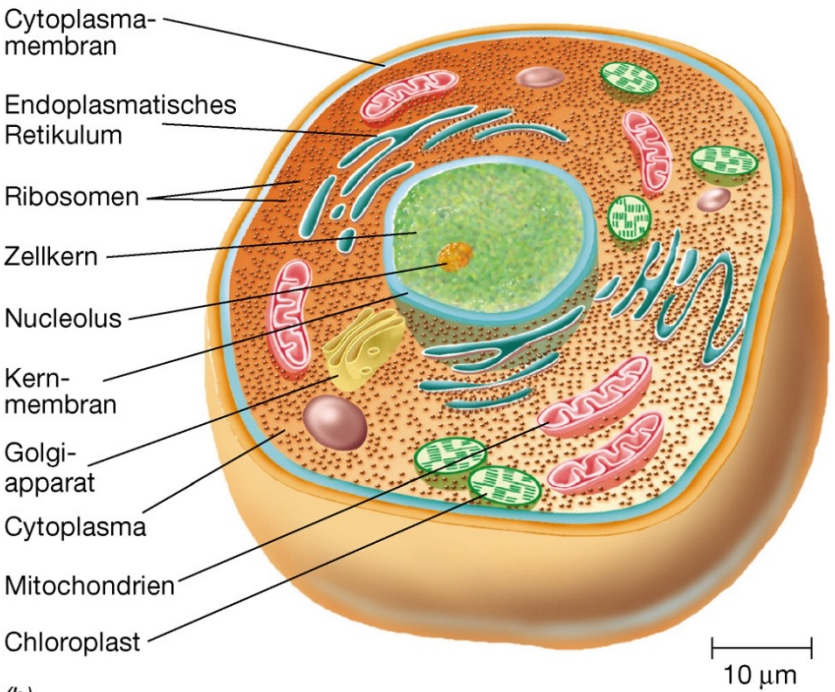


***polar-monotrich*: Begeißelung am Pol**

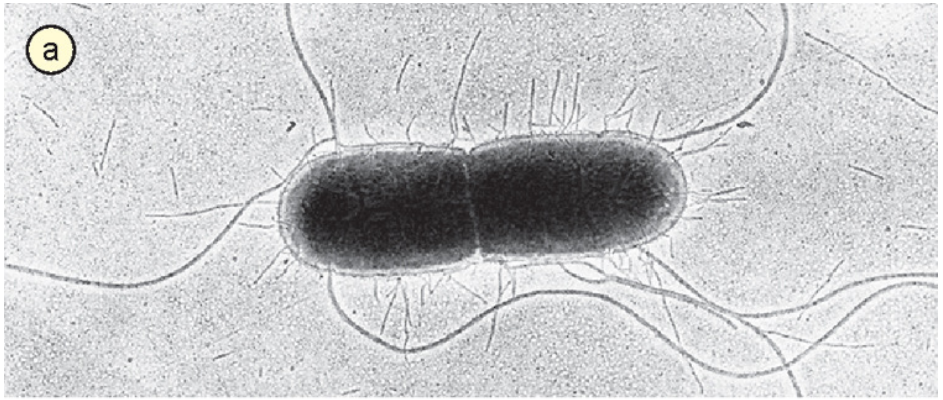


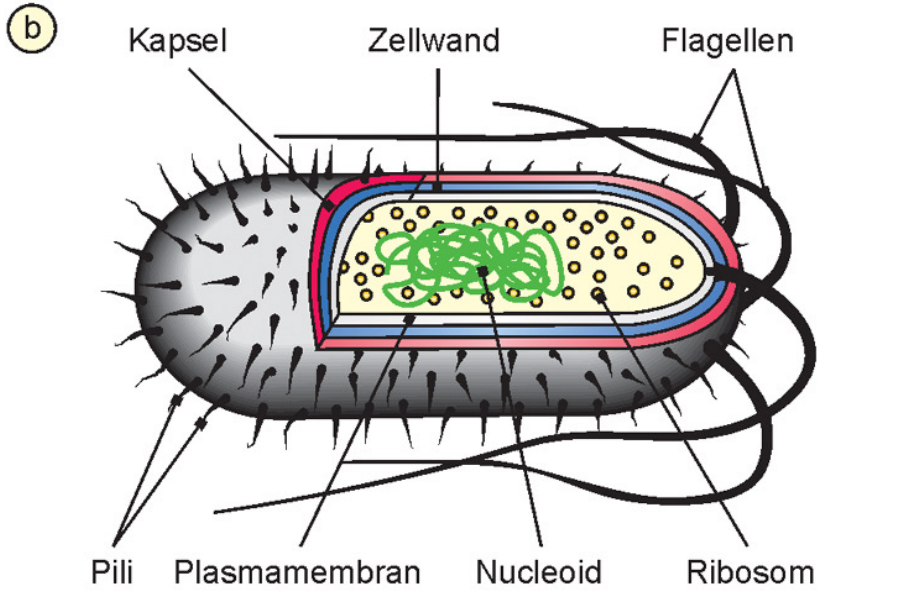


(a)



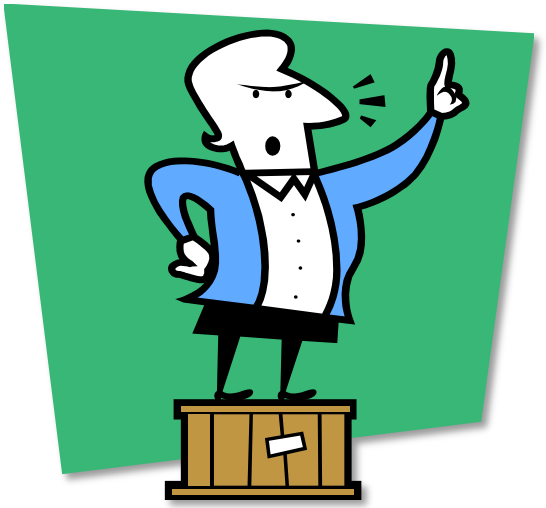
(b)



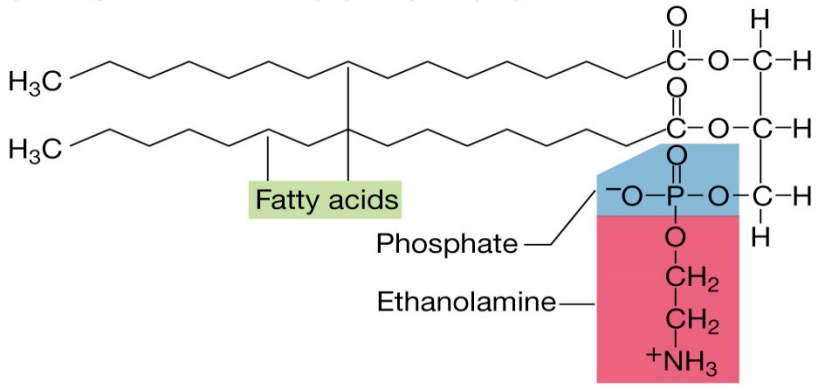


Aus Müller-Esterl, *Biochemie*, © 2004 Elsevier GmbH

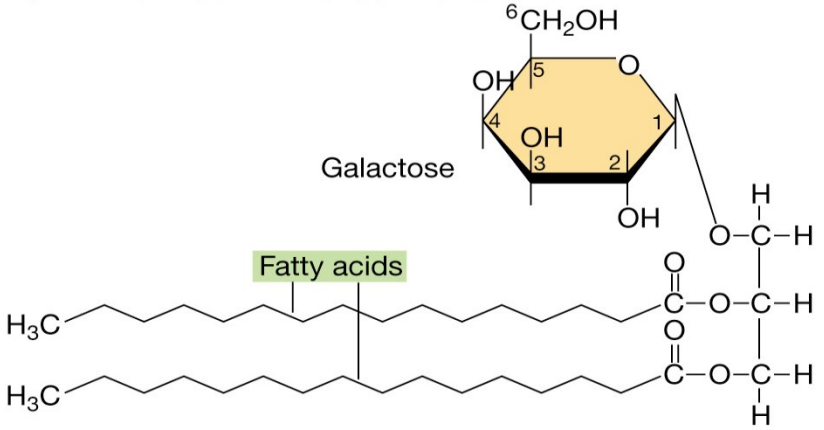
Bakterielle Zellmembran

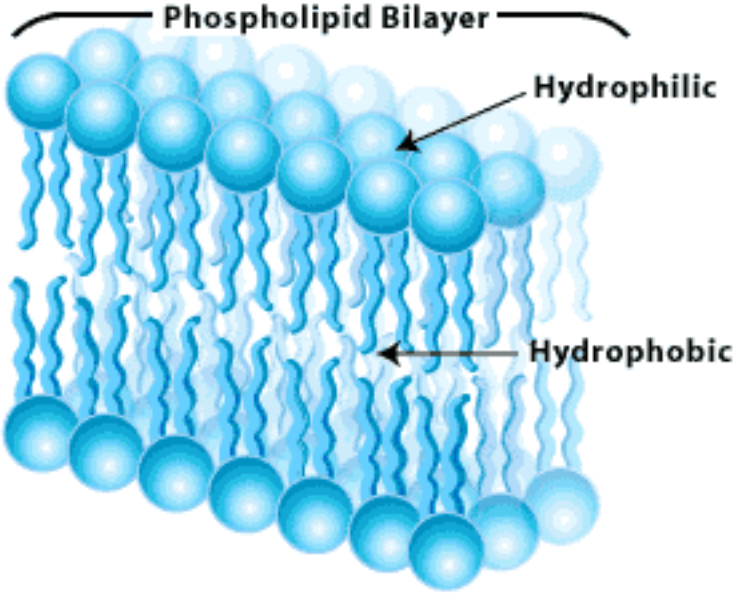


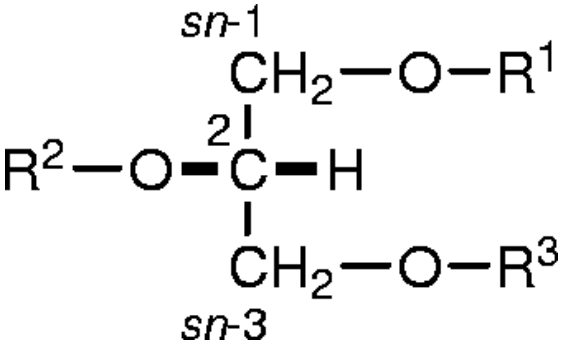
Complex lipid:
Phosphatidyl ethanolamine (a phospholipid)



Complex lipid:
Monogalactosyl diglyceride (a glycolipid)





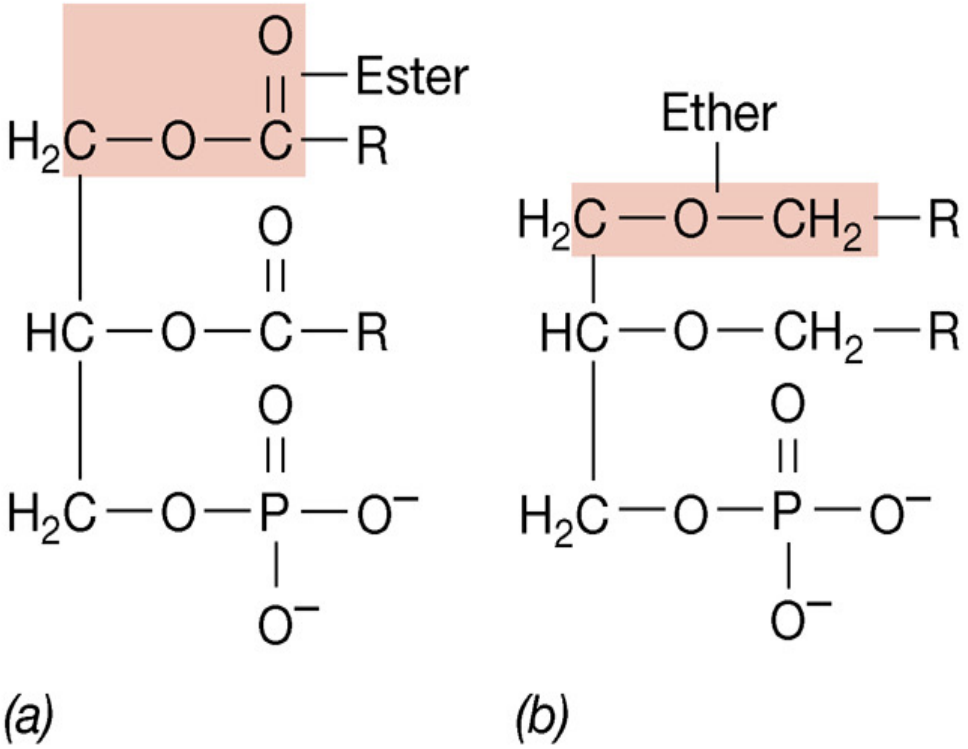


Phosphatrest sitzt an Position 3

- natürliche Fettsäuren haben üblicherweise eine gerade C-Zahl
  (Mensch: C16-18; andere Organismen: C16-C24)
- Fettsäuren sind meist gesättigt und haben keine (wenige) Doppelbindungen
- ungesättigte Fettsäuren sind meist durch eine CH_3-Gruppe getrennt,
  also **nicht** konjugiert
- biologische Membranen (Membranlipide) bestehen aus:

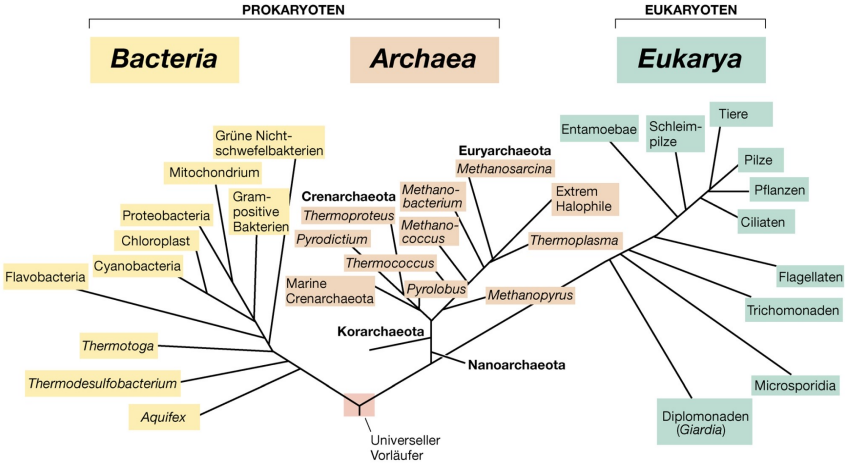
  - **Phospholipiden** (wichtigster Bestandteil!)
  - Glykolipiden
  - Cholesterin

- Speicherlipide (meist Triacylglycerine)
- Löslichkeit: in Wasser eher schlecht; aber in organischen Lösungsmitteln gut

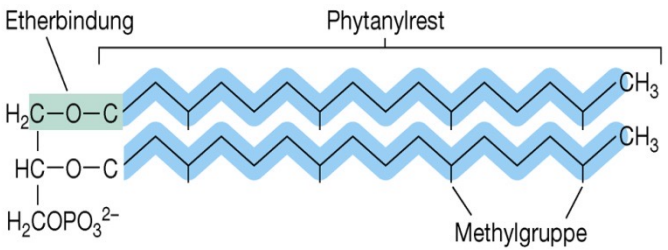


Bacteria,
Eukarya

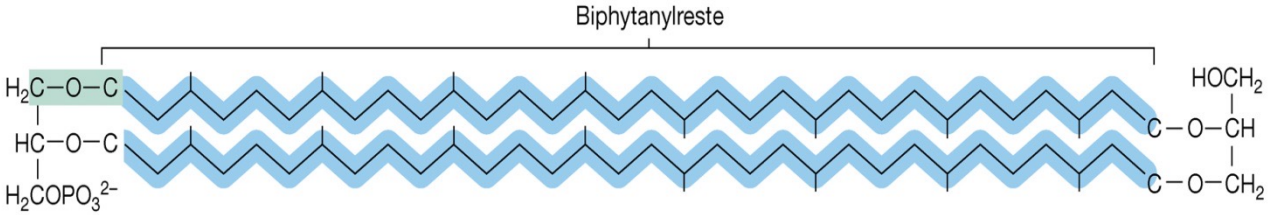
Archaea:
immer **Ether**bindungen,
keine **Ester**bindungen in
der Membran



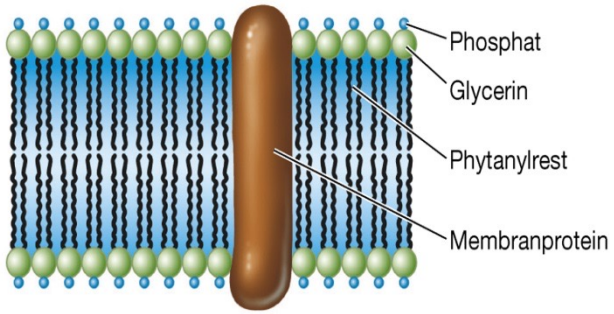
Hauptlipide der **Archaea** und die Struktur der archaeellen Membranen



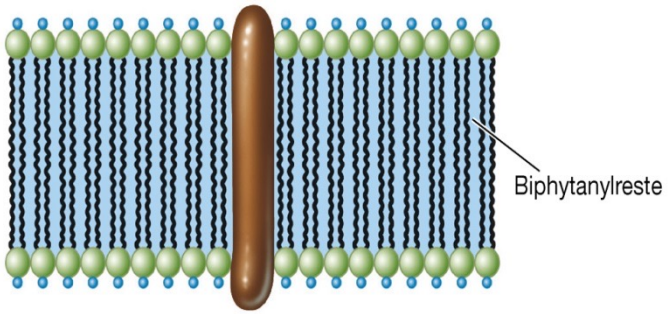
(a) **Glycerindiether**



(b) **Glycerintetraether**



(c) **Lipiddoppelschicht**



(d) **Kovalentverknüpfte Lipide, einschichtig**

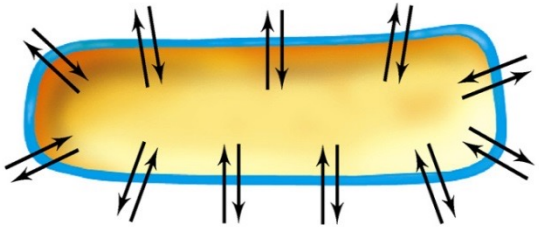
(a) Glyzerindiether

(b) Diglyzerintetraether
Beachten Sie, dass der Kohlenwasserstoff in beiden Fällen durch Etherverbindungen an das Glyzerin gebunden ist. Der Kohlenwasserstoff in (a) ist **Phytanyl** (C20) und in (b) **Diphytanyl** (C40)

(c,d) Membranstruktur bei den *Archaea*

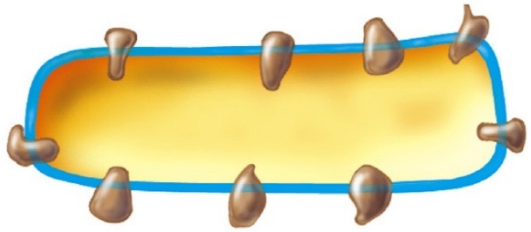
(c) Lipiddoppelschicht

(d) Lipideinzelschicht.



1. Permeabilitätsbarriere – Verhindert das Auslaufen und wirkt als selektive Barriere für den Transport von Nährstoffen in die Zelle und aus der Zelle heraus

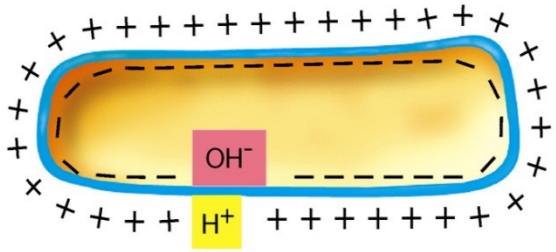
Permeabilitätsbarriere



2. Proteinverankerung – Sitz vieler Proteine, die am Transport, bioenergetischen Vorgängen und der Chemotaxis beteiligt sind

Proteinanker

drei Hauptfunktionen der **Cytoplasmamembran**

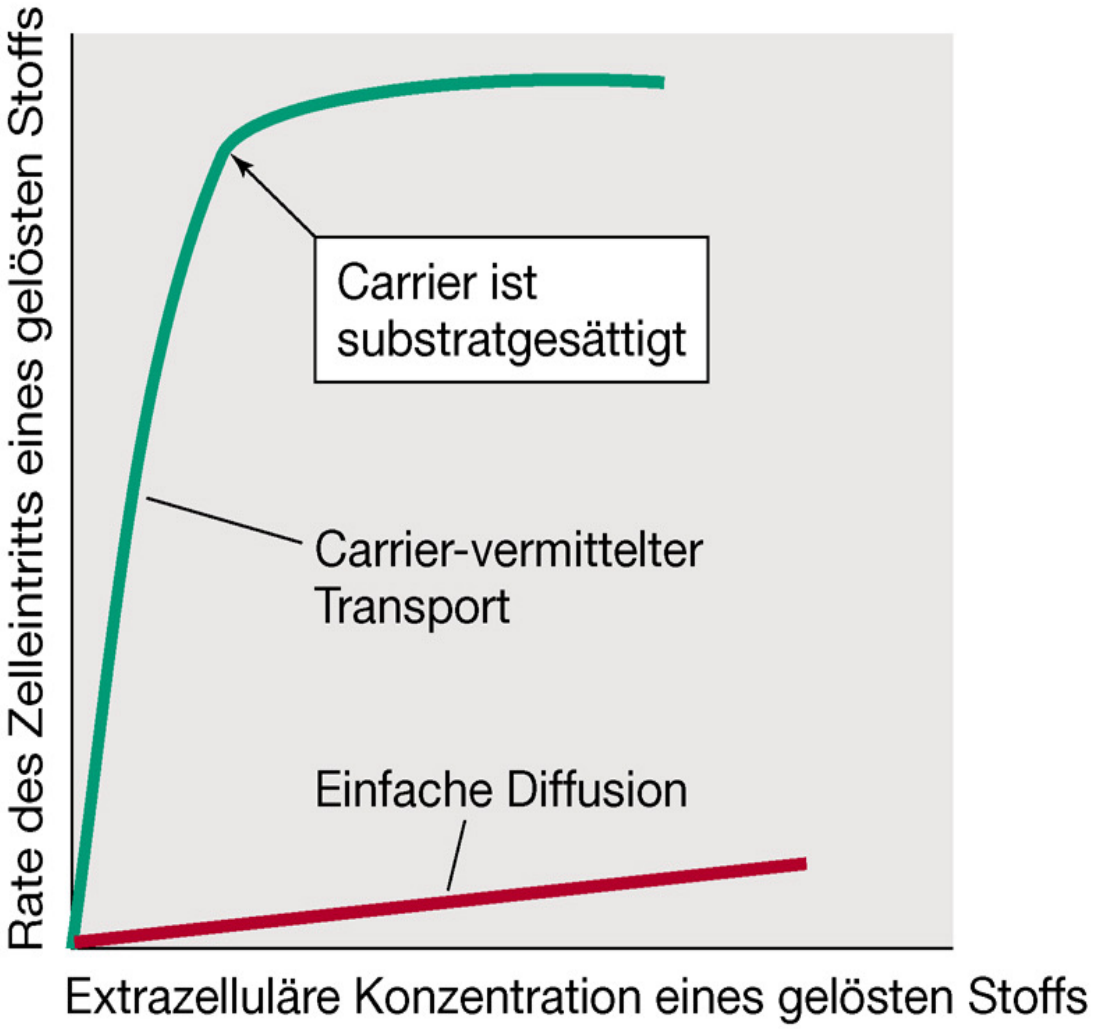


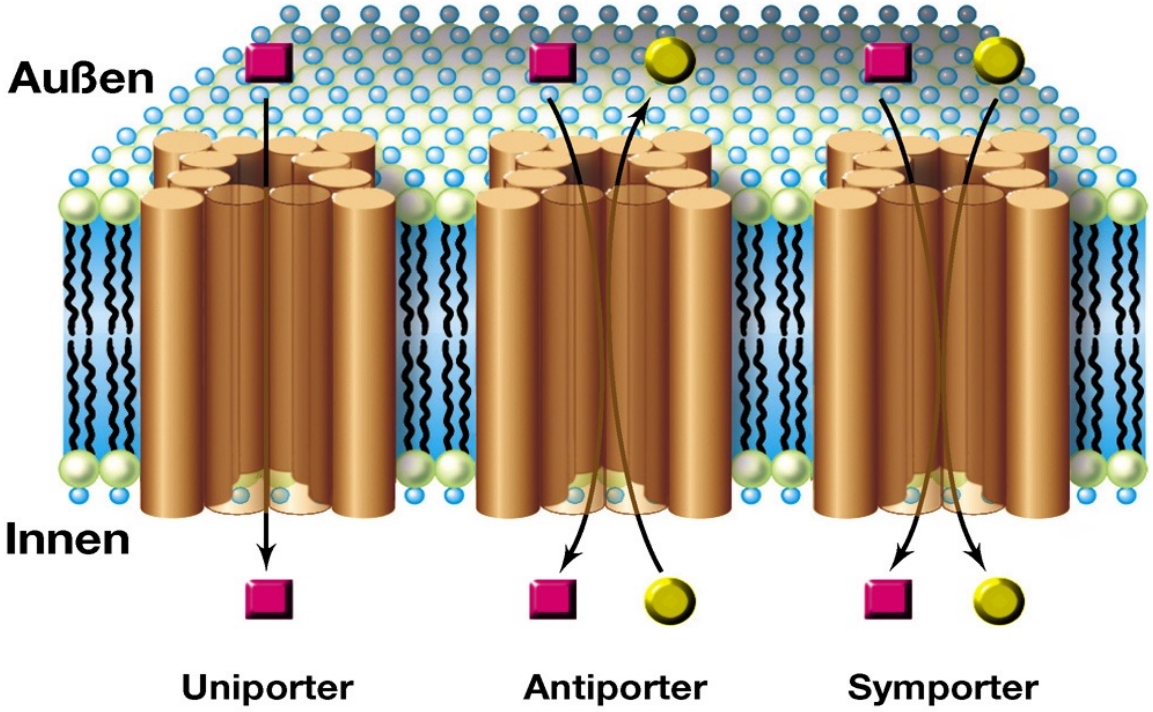
3. Energiekonservierung – Ort, an dem die protonenmotorische Kraft erzeugt und verbraucht wird

Aufbau eines (Energie-)Gradienten

Verhältnis zwischen Aufnahmegeschwindigkeit und externer Konzentration bei Diffusion und Transport

Beachten Sie, dass in dem trägerunterstützten Vorgang die Aufnahmemenge den Sättigungsgrad bei relativ niedriger äußerer Konzentration erreicht.



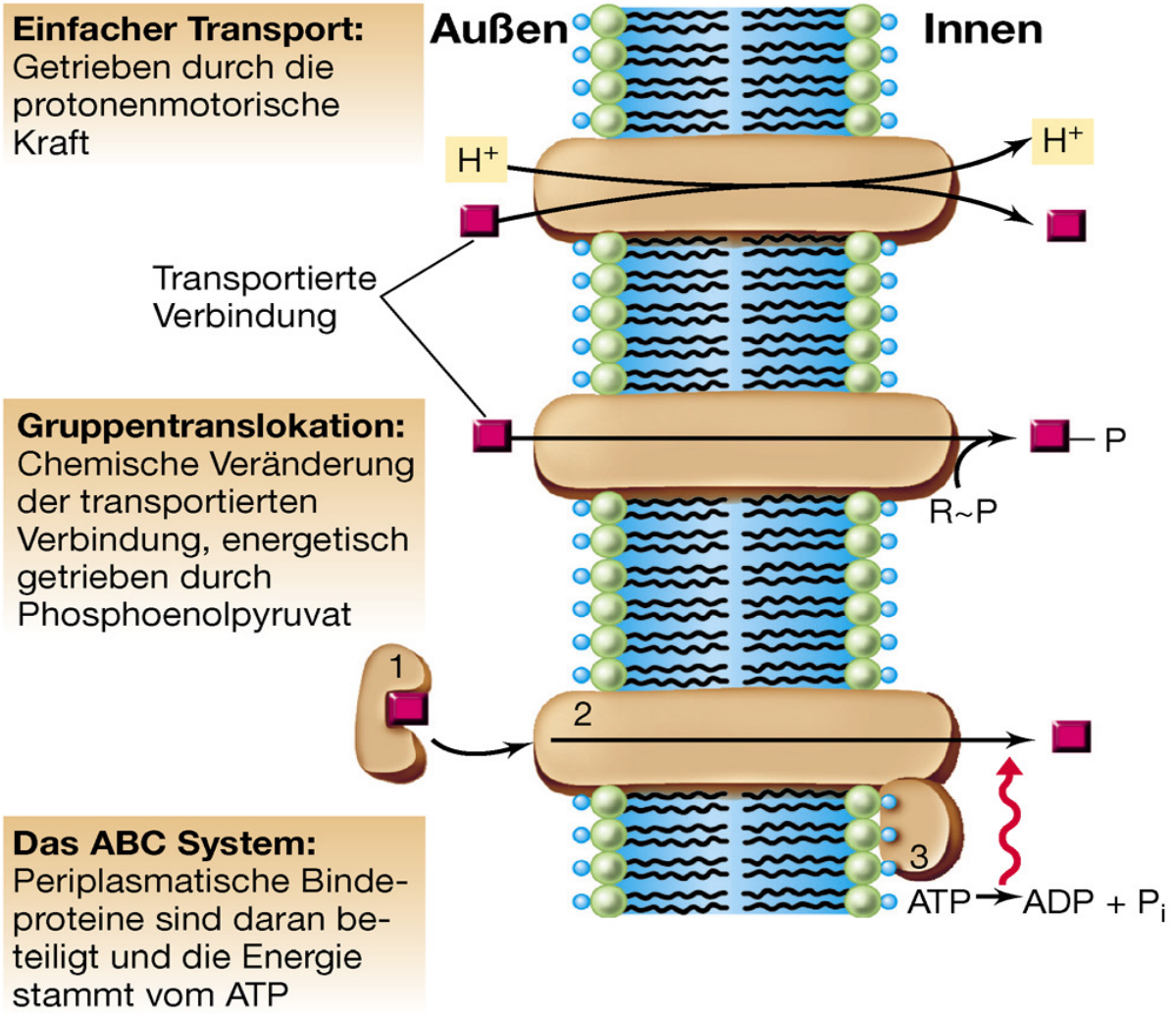


Struktur und Arten von Transportabläufen

Bei den Prokaryoten enthalten die Membrantransporter meist **12 α**-Helices, die einen Kreis und Kanal bilden

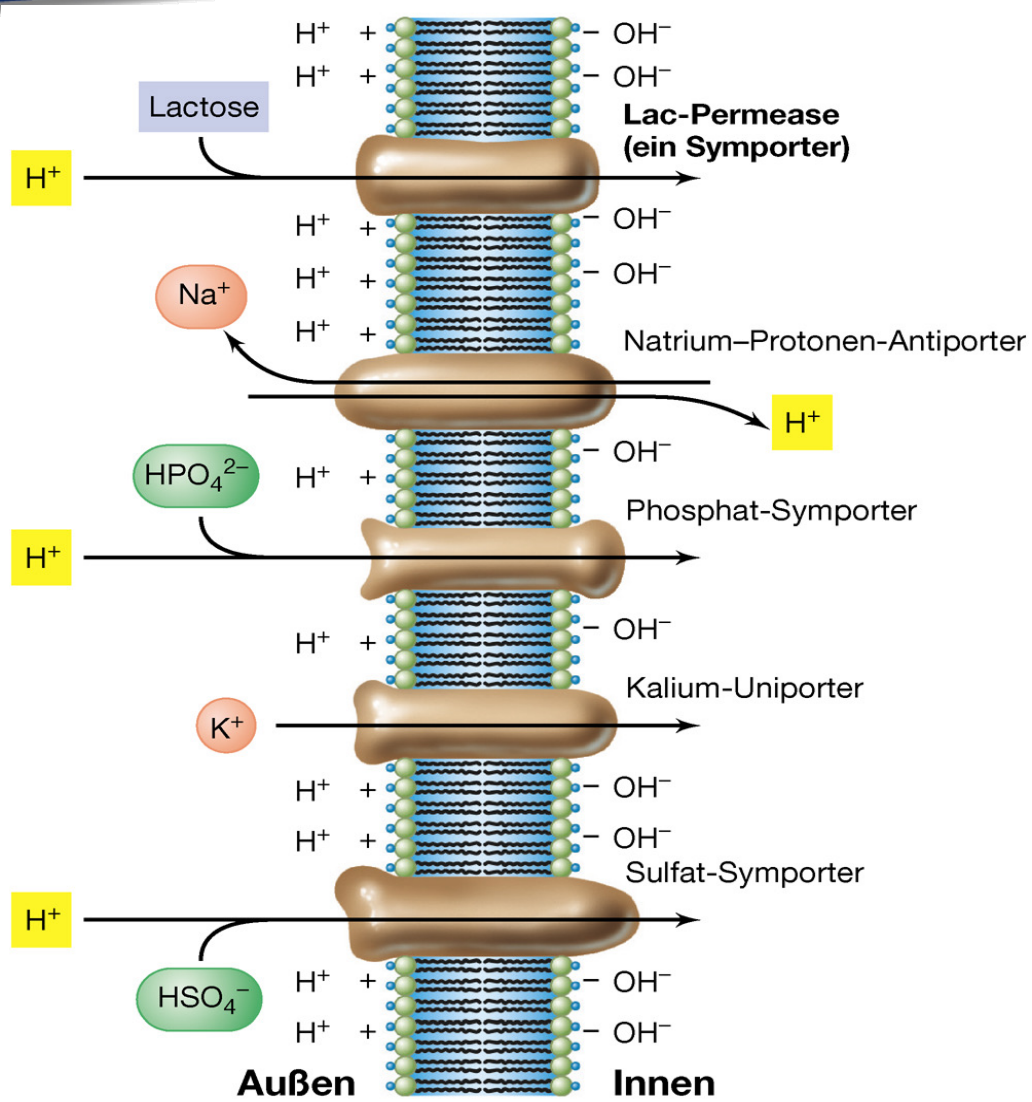
Es gibt drei Prinzipien, Moleküle zu transportieren

dazu gibt es drei generelle Typen von **Transportmaschinerien**

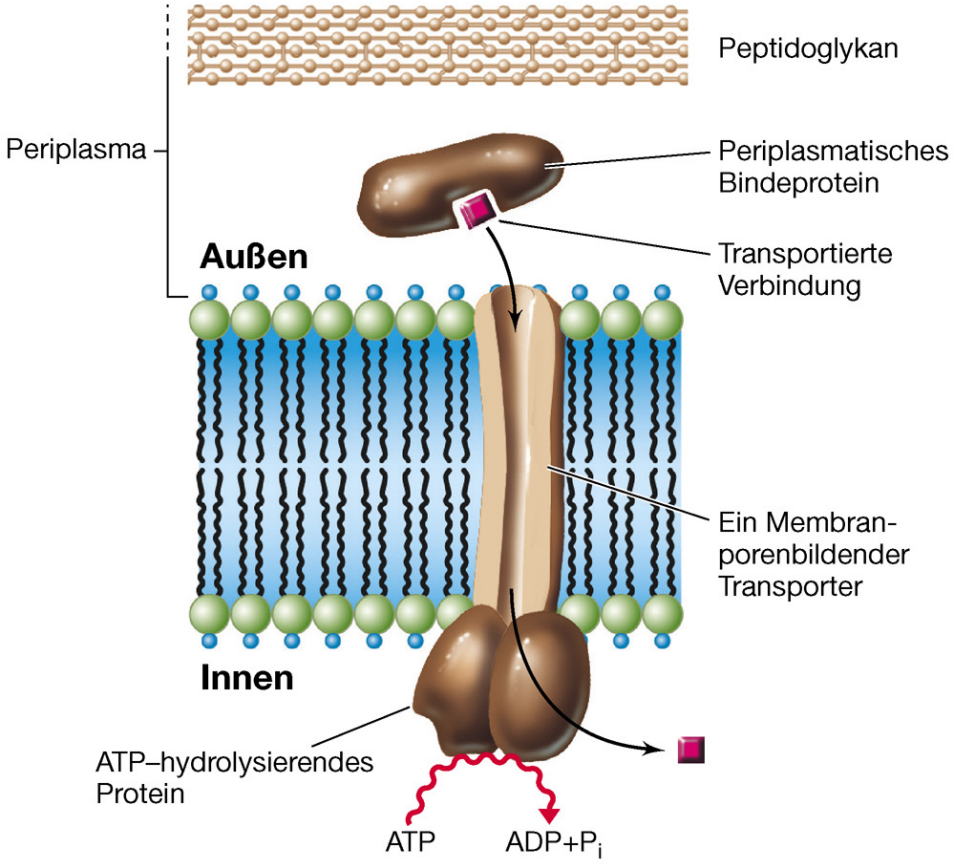


Funktion der Lac-Permease (ein Symporter) von *Escherichia coli* und mehreren anderen gut beschriebenen einfachen Transportern

Beachten Sie bitte auch, dass die Symporter und die Antiporter von der Energie der protonenmotorischen Kraft angetrieben werden.



ATP-Bindungscassettentransporter: ABC-Typ

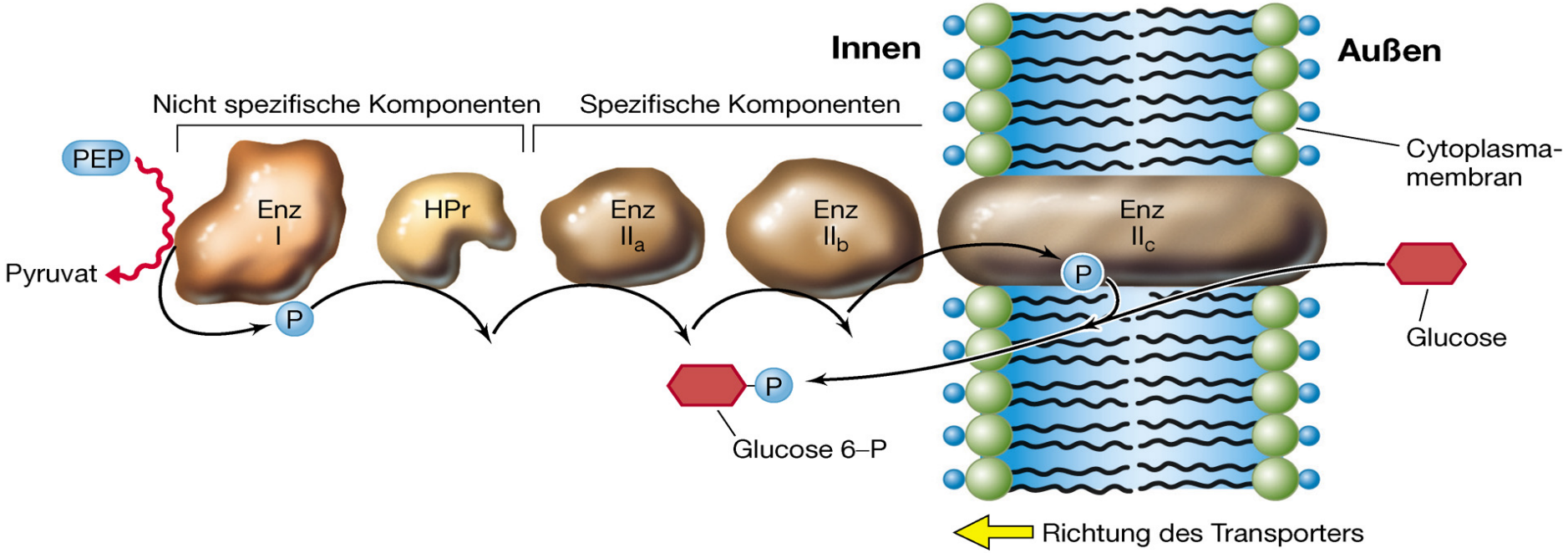


Das periplasmatische Bindeprotein weist eine hohe Affinität zum Substrat auf,

das die Membran durchziehende Protein bildet den Transportkanal und

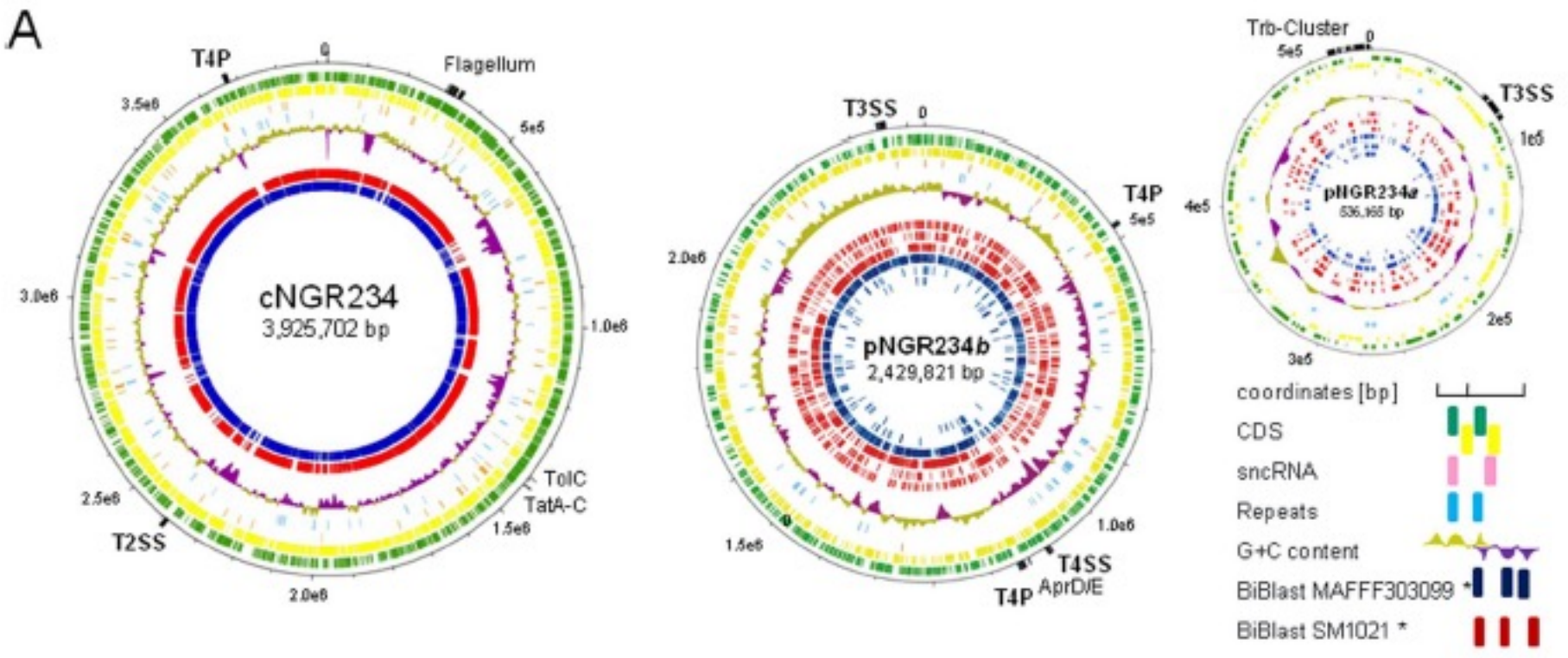
das cytoplasmatische ATP-hydrolysierende Protein liefert die Energie für den Transportvorgang

Bei *Escherichia coli* z.B. das Maltose-Transportsystem

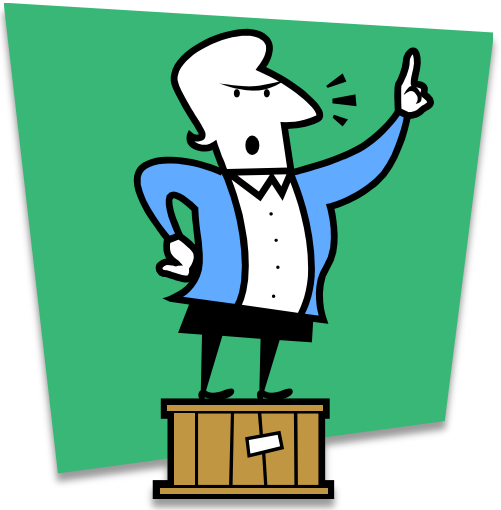


Mechanismus des **Phosphotransferasesystems** bei ***Escherichia coli*:**
Für die Aufnahme von Glucose besteht das System aus fünf Proteinen: Enzym (Enz)I, Enzyme II_a, II_b und II_c und HPr. Transport aller Zucker mit.
Die Enz II-Verbindungen sind für bestimmte Zucker spezifisch.

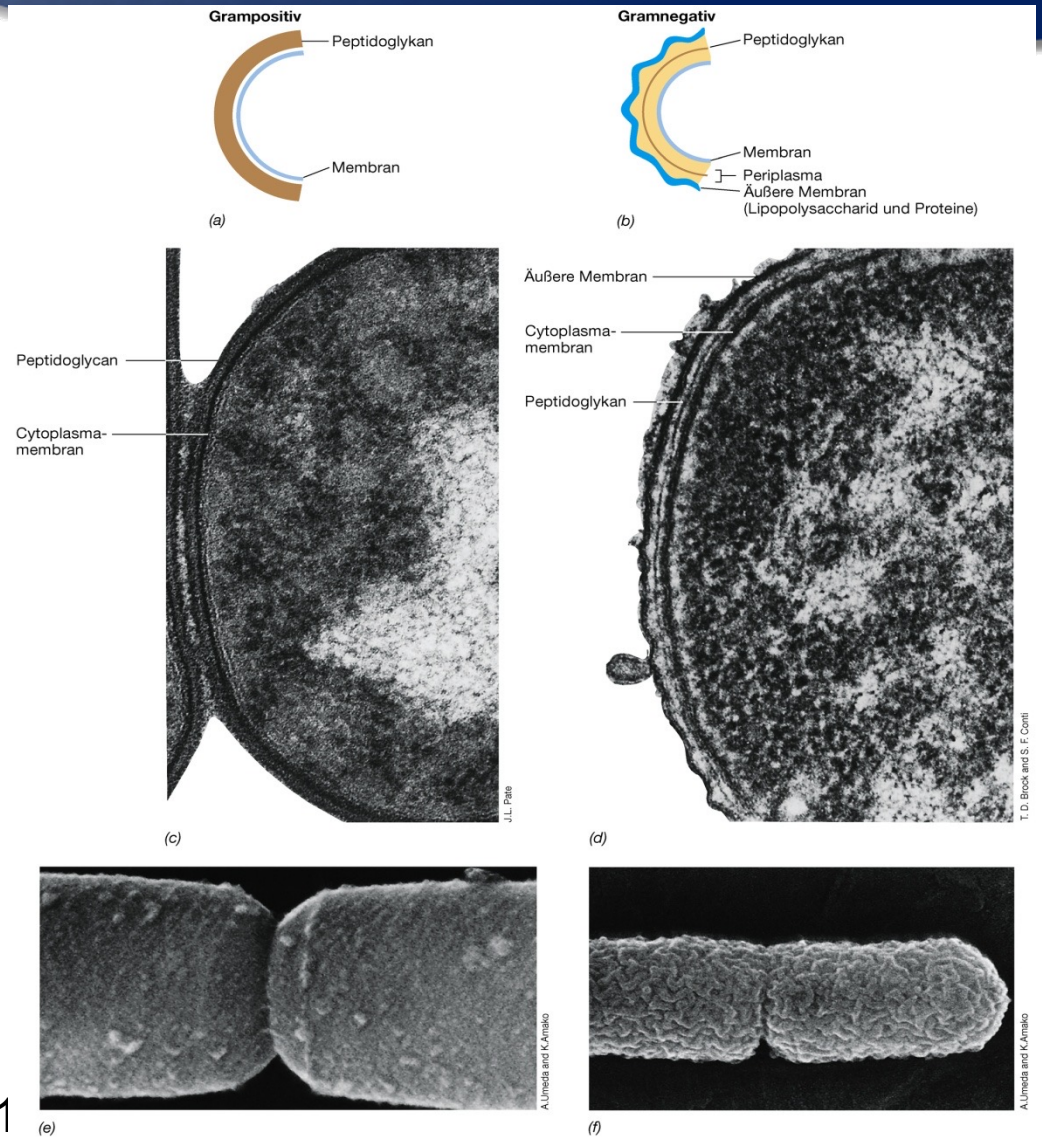
Bis zu 30 % eines bakteriellen Genoms kodieren für Transportprozesse!



Bakterieller Zellwandaufbau



Zellwände von Bakterien



Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen der **Zellwand**

(c) ***Arthrobacter crystallopoietes*** (Gram-positiv)

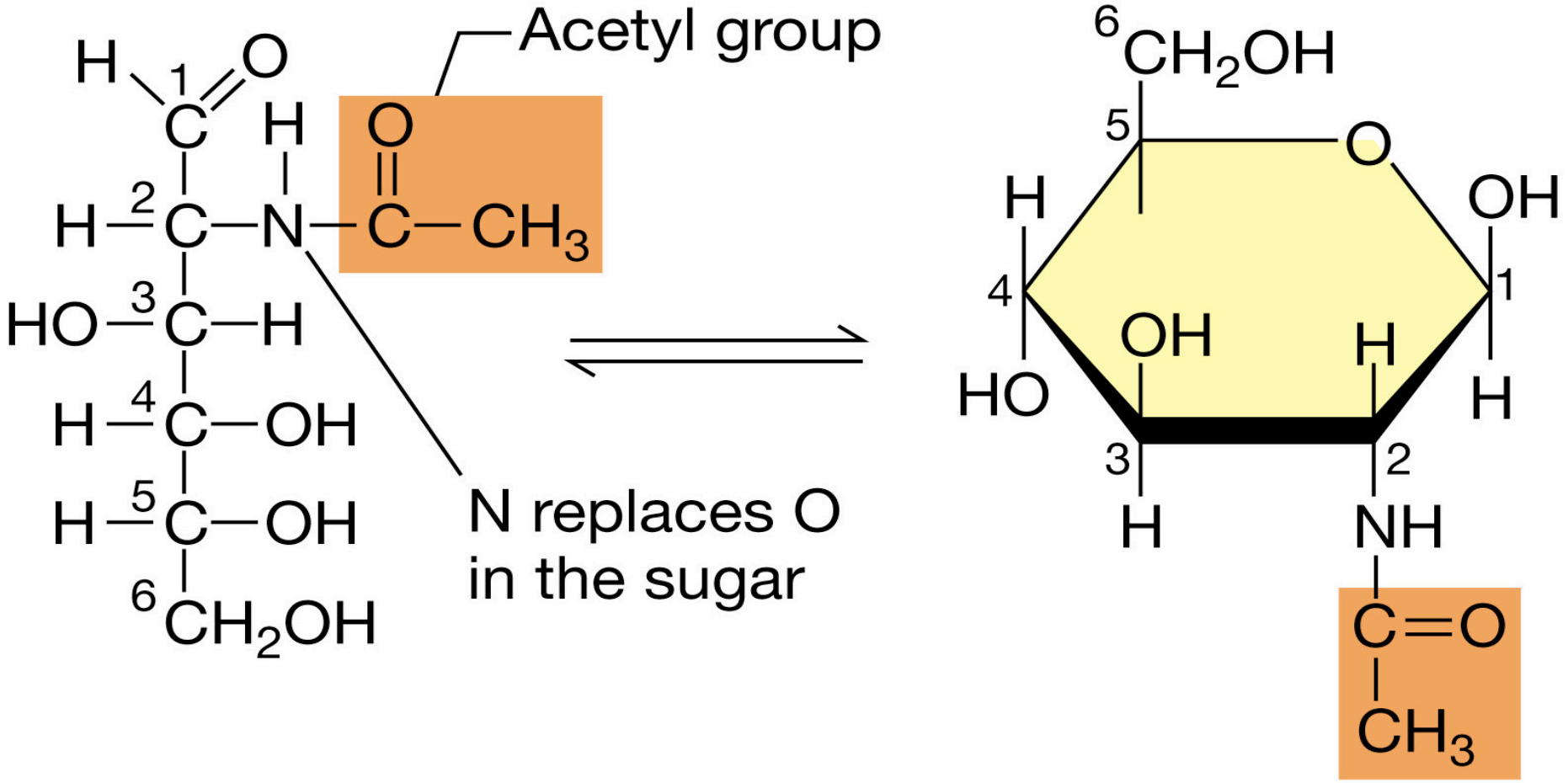
(d) ***Leucothrix mucor*** (Gram-negativ)

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

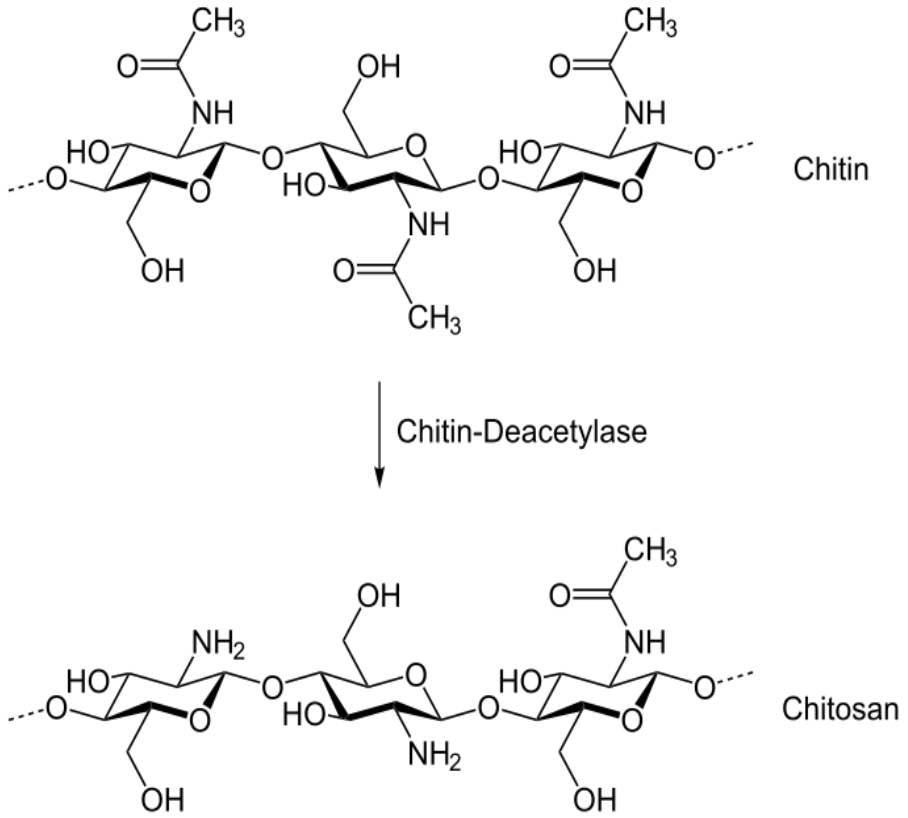
(e) ***Bacillus subtilis*** (Gram-positiv)

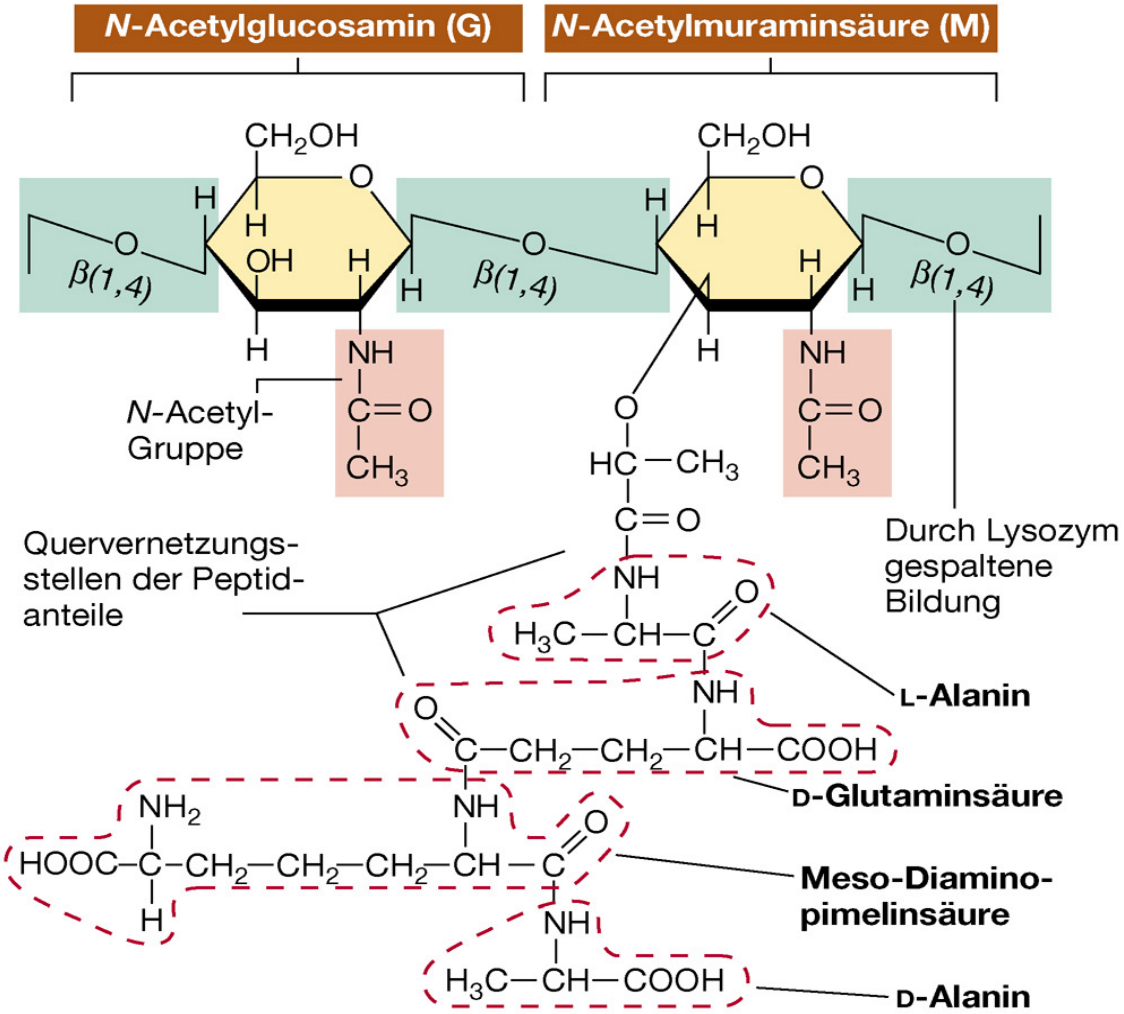
(f) ***Escherichia coli*** (Gram-negativ)

Beachten Sie die Oberflächenstruktur der in (e) und (f) abgebildeten Zellen. Eine einzelne Zelle von *B. subtilis* oder *E. coli* hat einen Durchmesser von ungefähr 1 µm.


Acetyl group
N replaces O
in the sugar

Zellwandaufbau



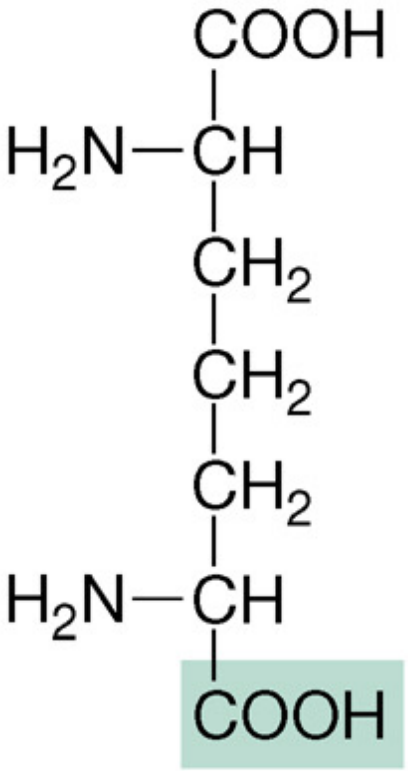


Struktur einer der sich wiederholenden Einheiten der **Peptidoglykan**-Zellwandstruktur, des **Glykantetrapeptids**

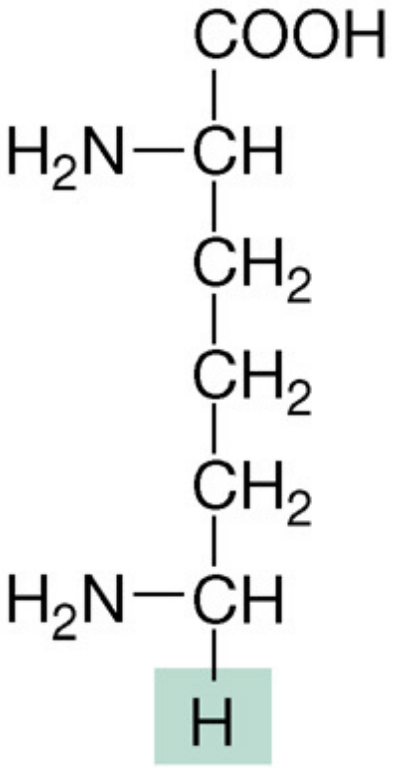
Die dargestellte Struktur findet man bei *Escherichia coli* und den meisten anderen Gram-negativen *Bacteria*.

- Lysozym spaltet die ß1,4 - Bindung

- Penicillin inhibiert die Ausbildung der Peptidbindungen



(a) **Diaminopimelinsäure**

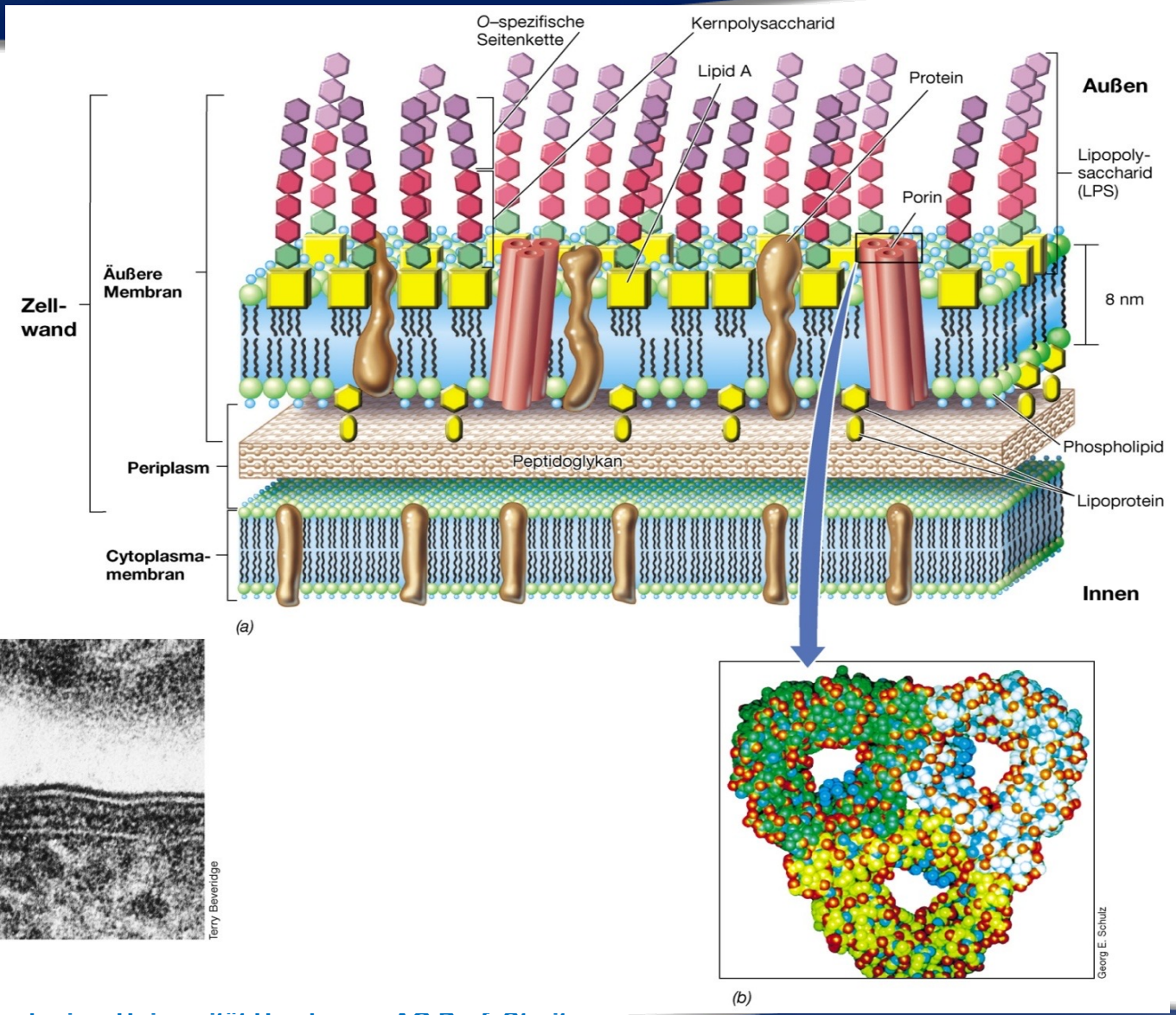


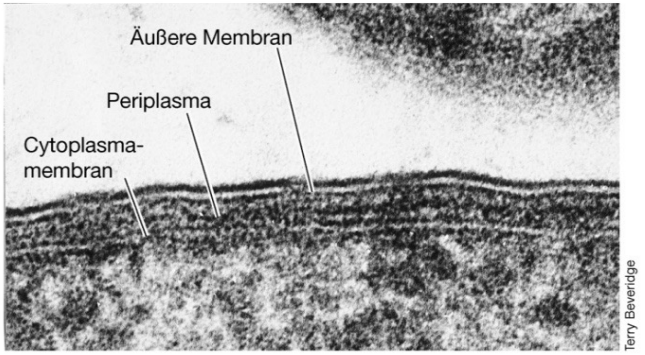
(b) **Lysin**

Quervernetzte Aminosäuren beim Peptidoglykan

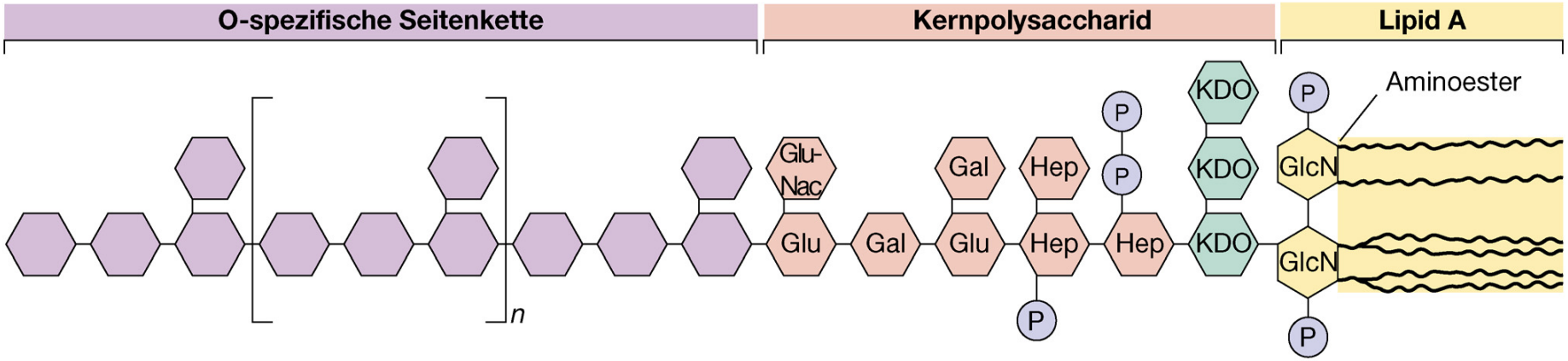
Der einzige Unterschied zwischen den beiden Molekülen ist in Farbe hervorgehoben. Neben diesen beiden Aminosäuren kommen bei den Quervernetzungen des Peptidoglykans noch mehrere andere Aminosäuren vor

Allerdings sind das D - Aminosäuren!


O–spezifische Seitenkette
Kernpolysaccharid
Lipid A
Protein
Außen
Lipopoly-saccharid (LPS)
Porin
8 nm
Zell-wand
Äußere Membran
Periplasm
Peptidoglykan
Phospholipid
Lipoprotein
Cytoplasma-membran
Innen
(a)
(b)
Georg E. Schulz


Äußere Membran
Periplasma
Cytoplasma-membran
Terry Beveridge

Struktur des **Lipopolysaccharids** Gram-negativer *Bacteria*



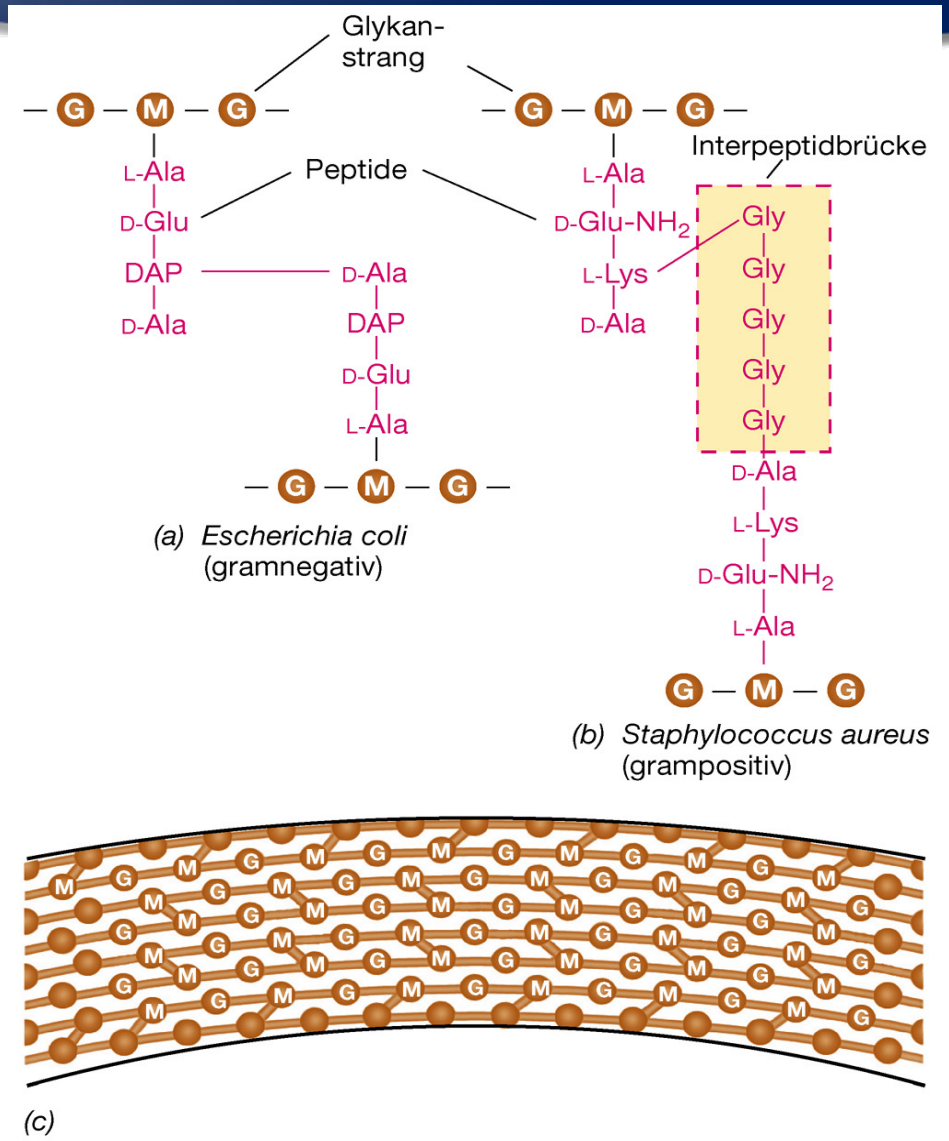
Die genaue Chemie des Lipid A- und des Polysaccharidanteils variiert von Spezies zu Spezies Gram-negativer *Bacteria*, aber die Sequenz der Hauptbestandteile (Lipid A – KDO – Kern – O – spezifisch) ist im Allgemeinen gleich.

Die O-spezifische Seitenkette variiert je nach Spezies.

KDO, Ketodesoxyoctonat; **Hep**, Heptose; **Glu**, Glucose; **Gal**, Galactose; **GlucNac**, N-Acetylglucosamin; **GlcN**, Glucosamin; **P**, Phosphat.

Glucosamin und die Lipid A Fettsäuren sind durch eine Aminoesterbindung verknüpft.

Achtung! Der Lipid A-Anteil des LPS kann für Tiere/Menschen toxisch sein und enthält den Endotoxinkomplex!



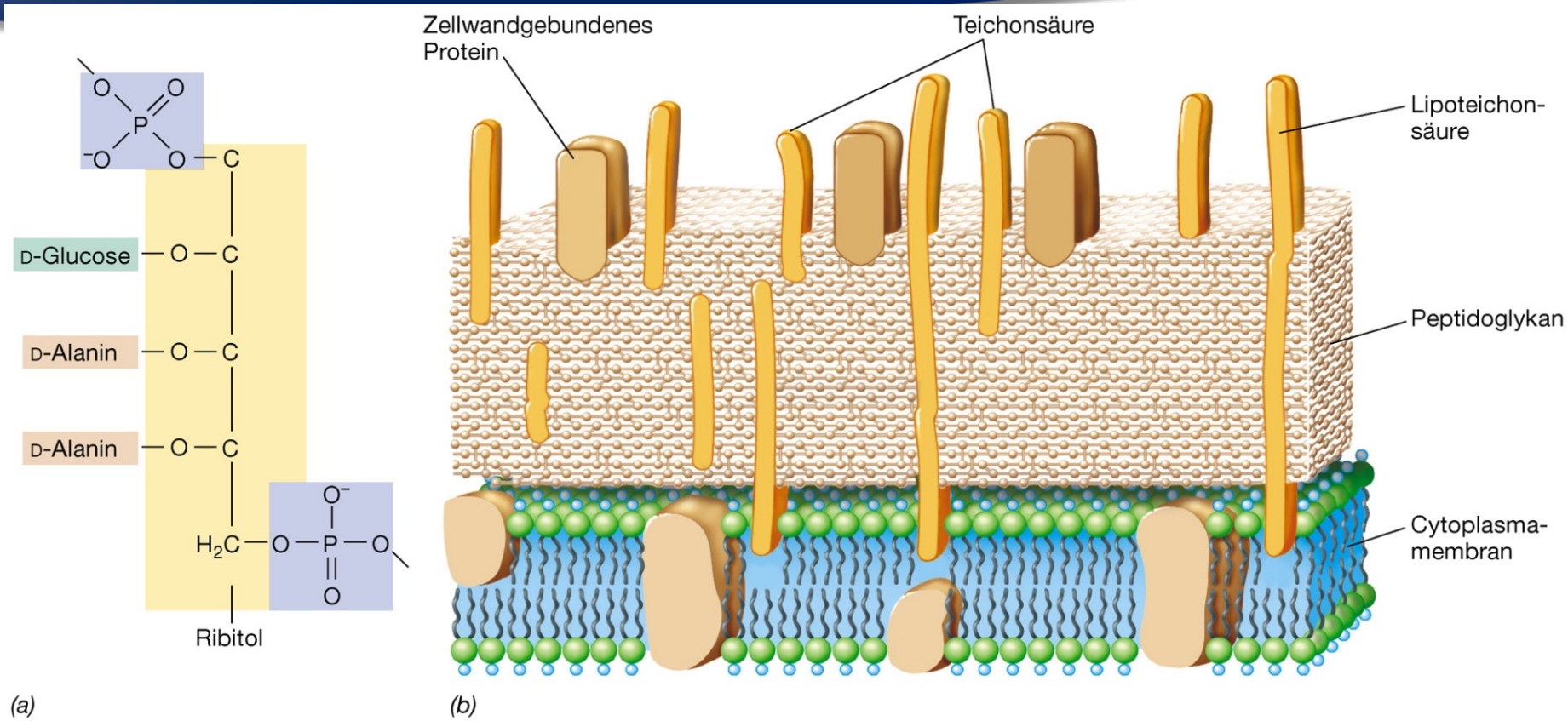
Wie die **Peptid-** und **Glykan**einheiten verbunden werden, um bei *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* die **Peptidoglykanschicht** zu bilden

(a) Bei *E. coli* und anderen Gram-negativen *Bacteria* gibt es keine Interpeptidbrücke

(b) Die Glycininterpeptidbrücke bei *S. aureus* (Gram-positiv)

(c) Gesamtstruktur des Peptidoglykans

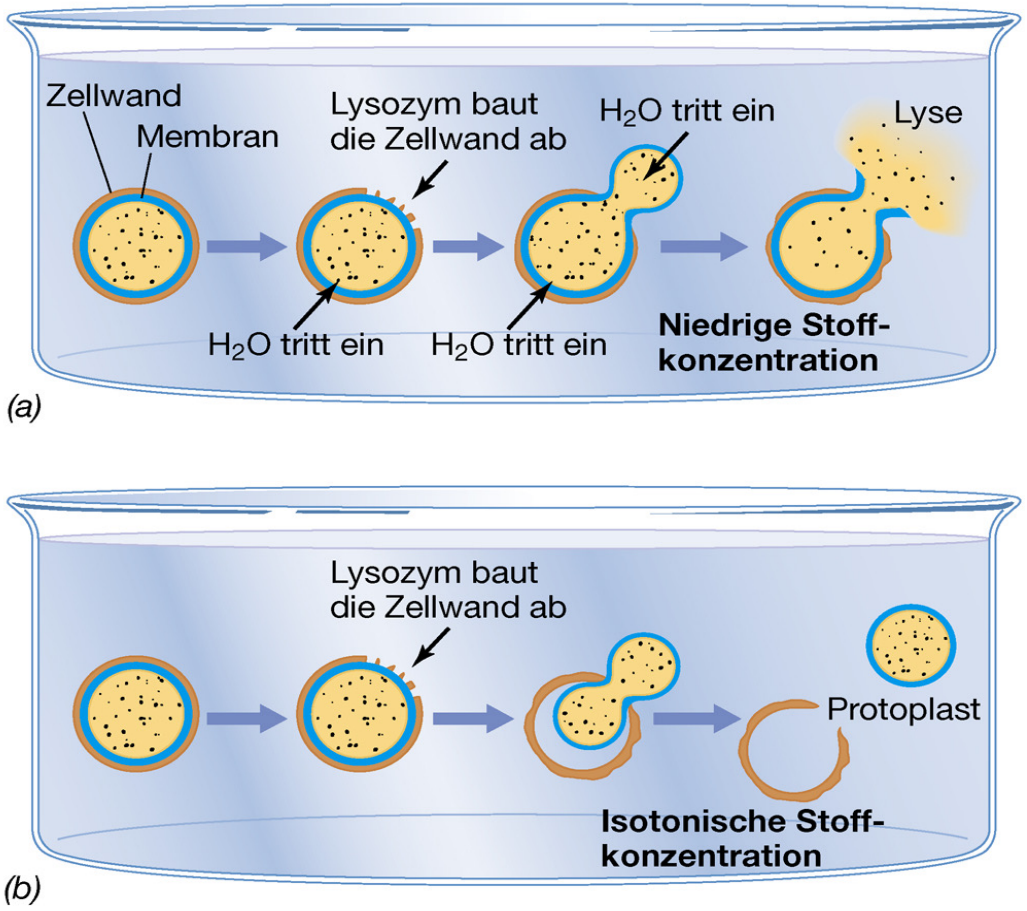
G, N-Acetylglucosamin
M, N-Acetylmuraminsäure



Teichonsäuren und die Gesamtstruktur der Gram-positiven Zellwand

(a) Struktur der Ribitolteichonsäure von *Bacillus subtilis*. Die Teichonsäure ist hier als Polymer aus sich wiederholenden Ribitoleinheiten dargestellt

Protoplasten und deren Bildung

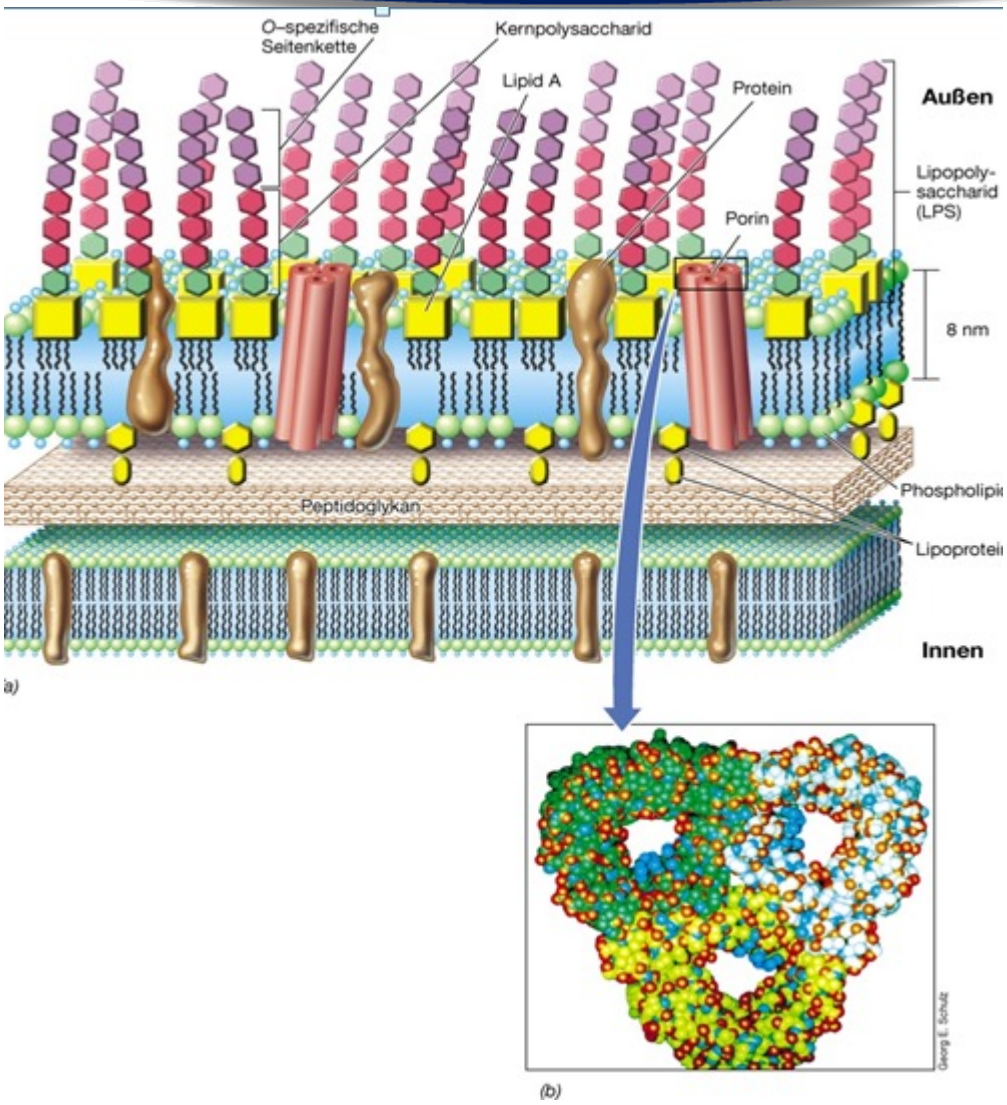


(a) In einer verdünnten Lösung wird der Protoplast durch den Abbau der Zellwand freigesetzt, aber er lysiert sofort, weil die Cytoplasmamembran eine sehr schwache Struktur hat.

(b) In einer Lösung, die eine isotonische Konzentration eines gelösten Stoffes wie zum Beispiel Saccharose enthält, dringt das Wasser nicht in den Protoplasten ein und dieser bleibt stabil.

Lysozym spaltet die ß-1,4-glykosidischen Bindungen des Peptidoglykan!

Die Gram-negative Zellwand



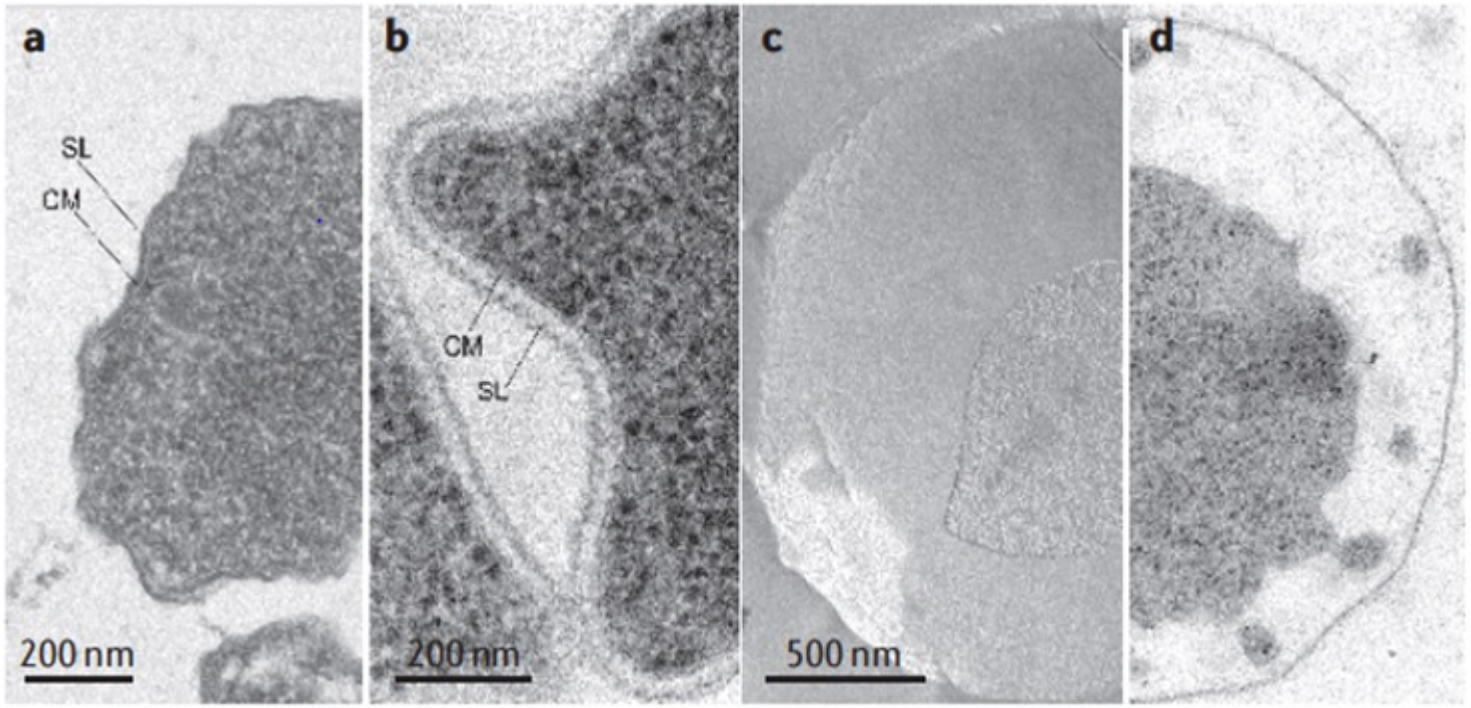
Beachten Sie, dass die Schicht der äußeren Membran sich in Chemie und Aufbau in vielerlei Hinsicht von der Cytoplasmamembran unterscheidet.

(a) Anordnung von Lipopolysaccharid, Lipid A, Phospholipid, Porinen und Lipoprotein in der äußeren Membran.

Lipid A kann beim Menschen toxisch wirken. Wenn dies der Fall ist, dann bezeichnet man es als Endotoxin

(b) Molekularmodell von Porinproteinen
Beachten Sie, dass es vier Poren gibt - jeweils von einem der Proteine gebildet - die ein Porinmolekül bilden und eine zentrale Pore zwischen den Porinproteinen.

Zellwandprofile verschiedener Archaea



CM: Cytoplasma Membran, **SL**: S- Layer

a) Halobacterium, **b)** Sulfolobus, **c)** Thermoproteus **d)** Staphylothermus

Nature Rev. 2011

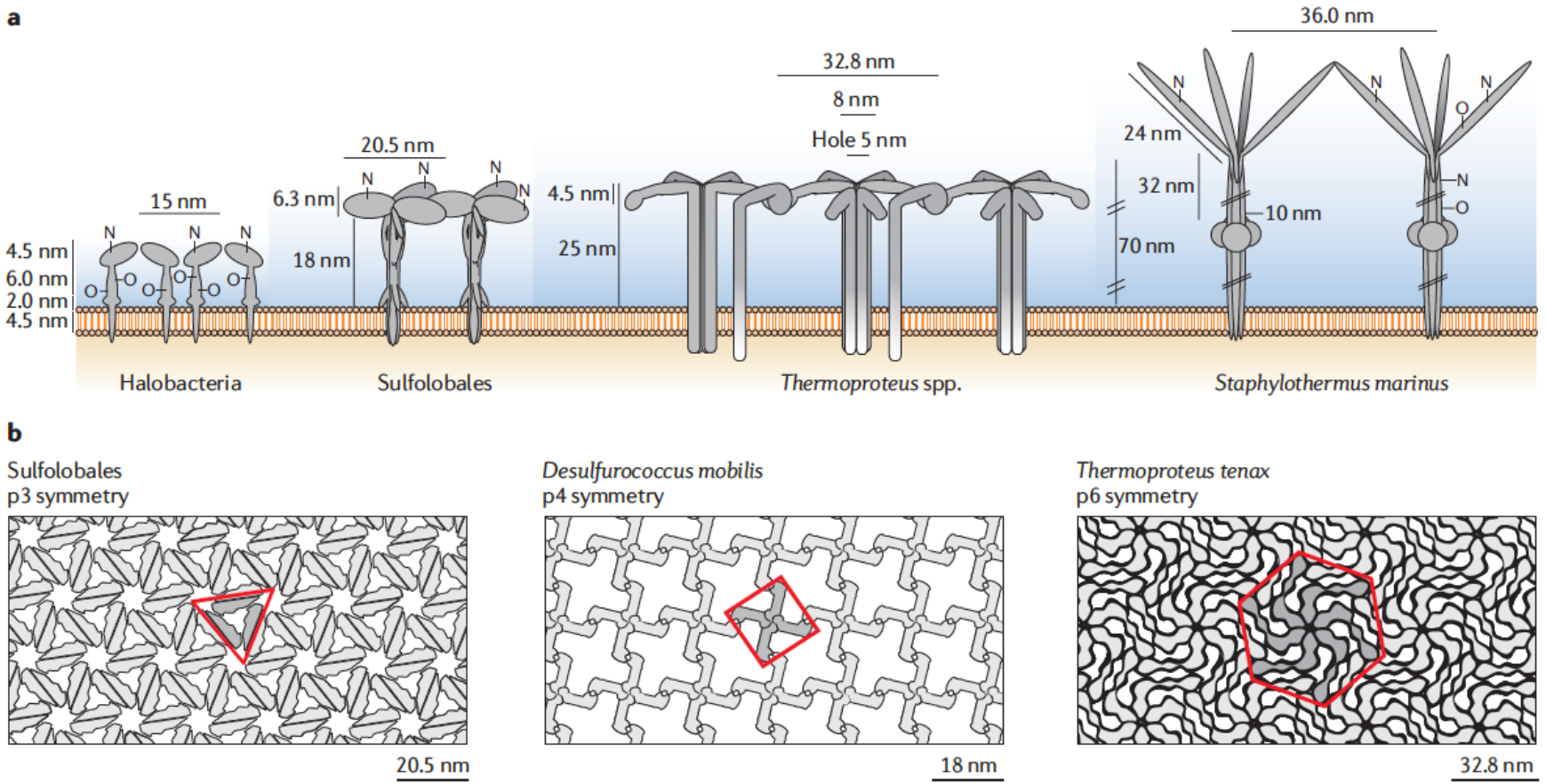
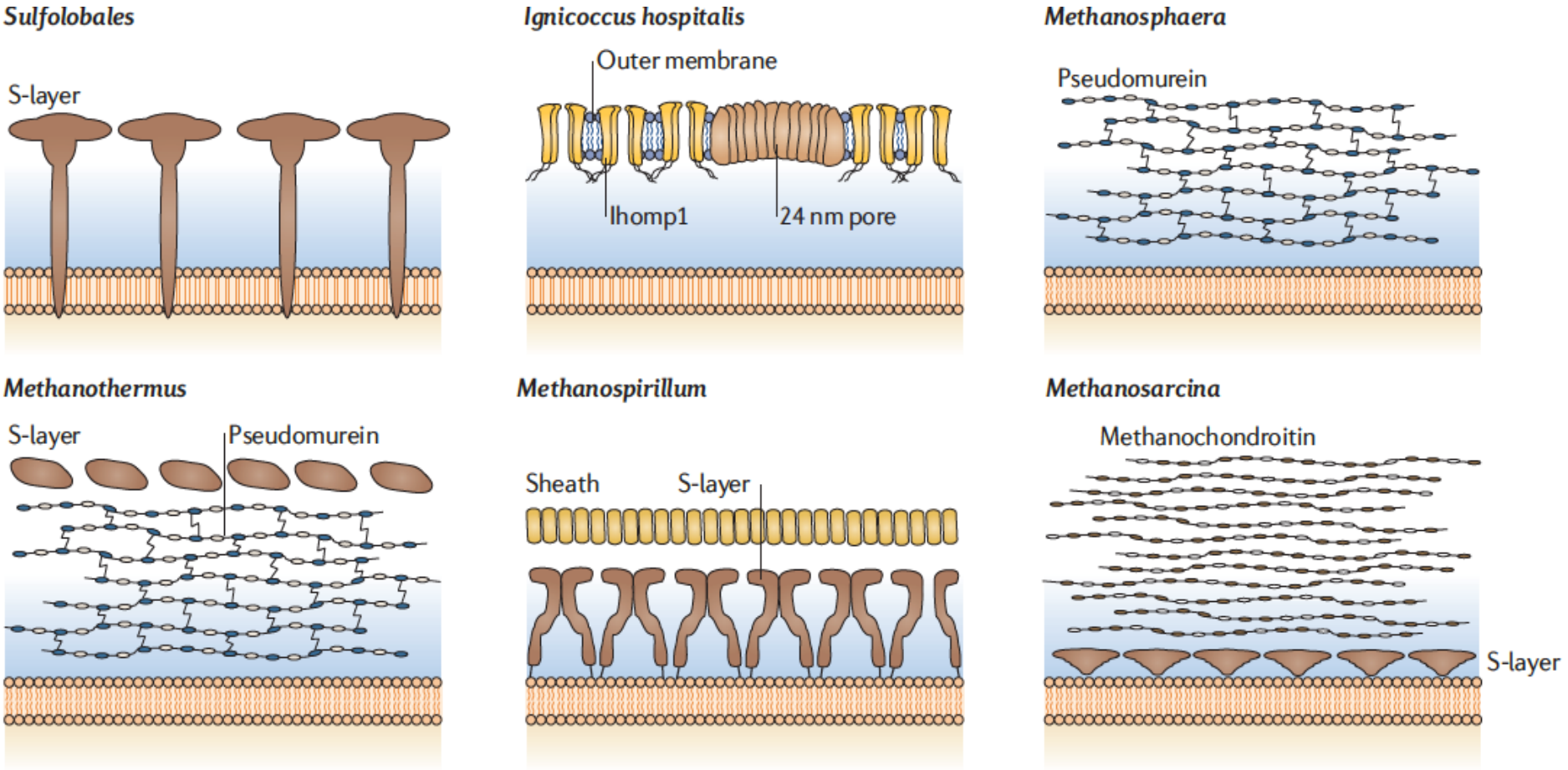


Figure 3 | **Models of the archaeal S-layer. a** | Side view of the assembly of surface-layer (S-layer) proteins in different archaea (Halobacteria[145], Sulfolobales[145], *Thermoproteus* spp.[145] and *Staphylothermus marinus*[146]; for details see also Supplementary information S1 (table)). **b** | Top view of the lattice structure of different S-layers: S-layer proteins are shown in grey, and pores or holes in white. The red perimeter shows a single repeating unit in the cases of the p3, p4 and p6 symmetry. Sulfolobales display p3 symmetry[147], *Desulphurococcus mobilis* displays p4 symmetry[148] and *Thermoproteus tenax* displays p6 symmetry[149,150]. N, *N*-linked glycosylation; O; *O*-linked glycosylation.

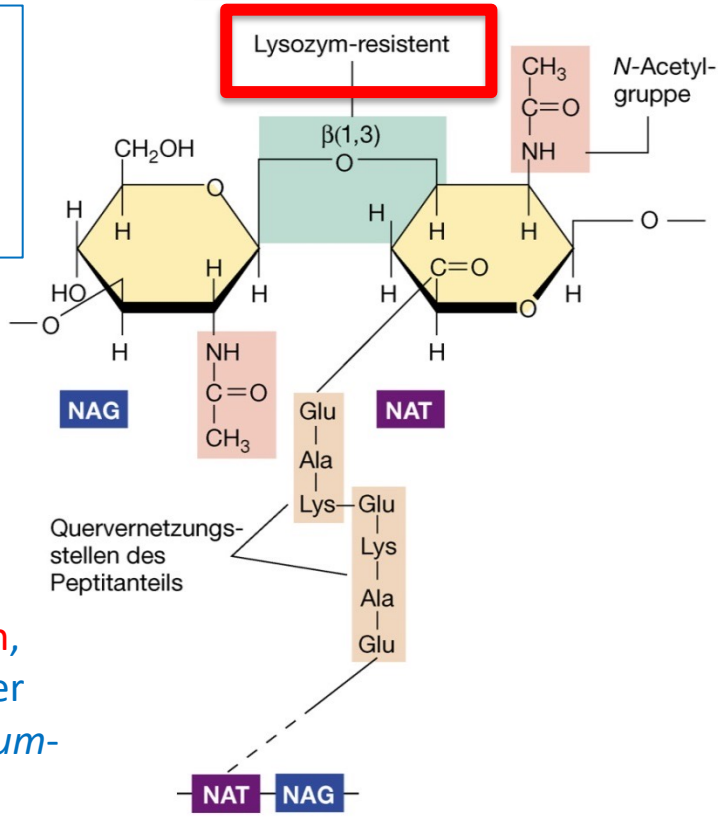
Nature Rev. 2011



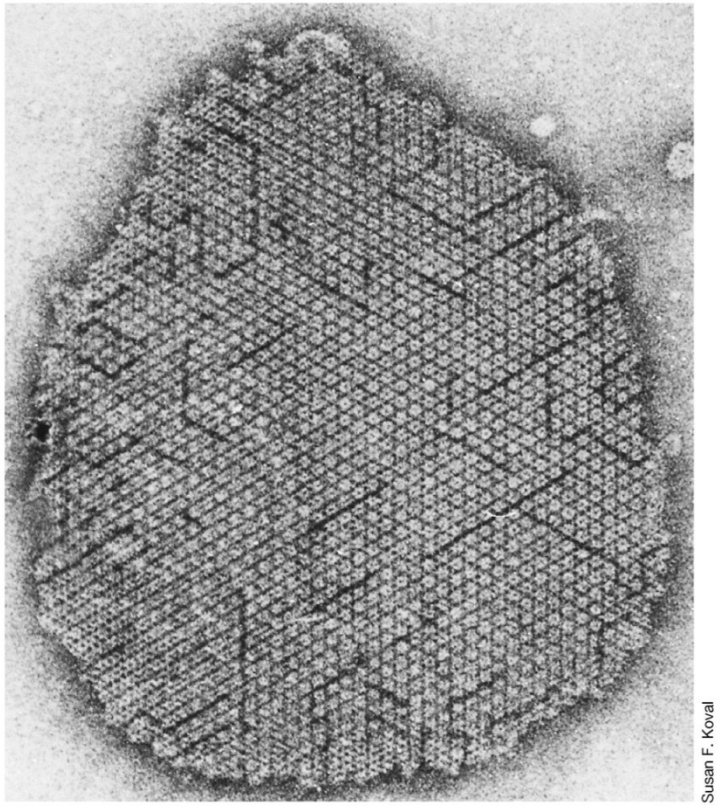
Zellwandprofile verschiedener Archaea

Nature Rev. 2011

Pseudo-peptidoglykan und S-Schichten



(a)

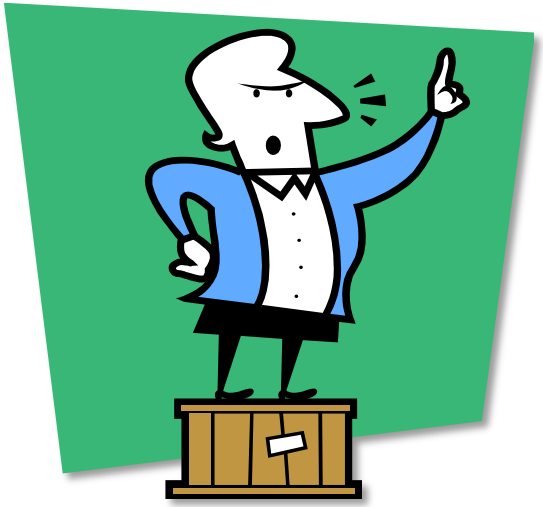


(b)

(a) Struktur von Pseudopeptidoglykan, dem Zellwandpolymer von *Methanobacterium*-Spezies

(b) S-Schicht des Prokaryoten ***Aquaspirillum serpens*** (ein Mitglied der *Bacteria*); diese S-Schicht weist wie viele der bei den *Archaea* gefundenen S-Schichten eine hexagonale Symmetrie auf.

Mikrobielles Wachstum

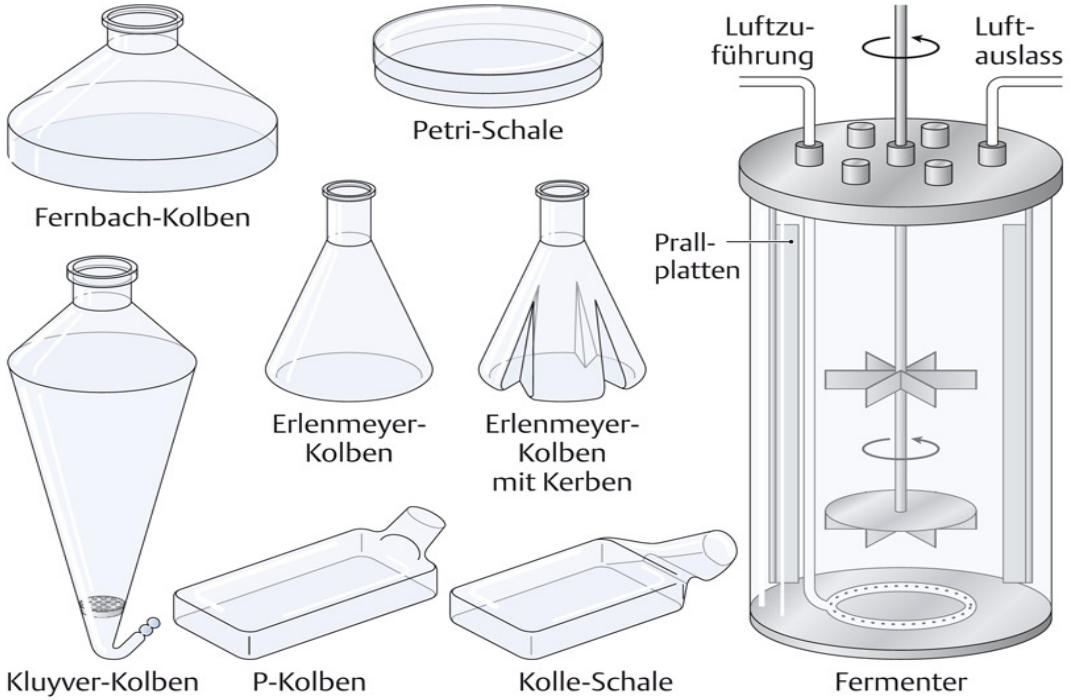


Kulturgefässe
Medien und Nährstoffe
Umweltparameter und
Definitionen
Techniken
Mathematik
Bestimmung von Wachstum

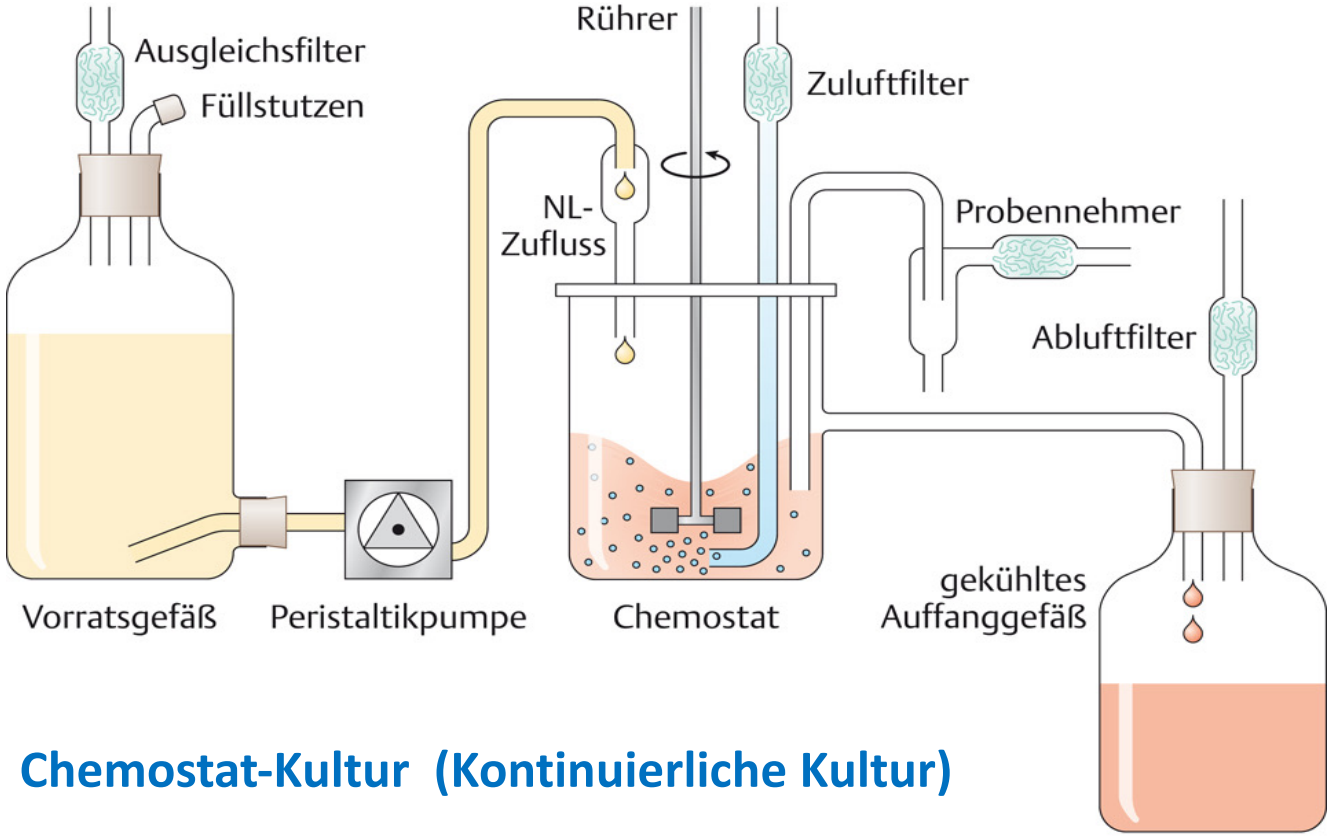
Gefäße zur Anzucht von Mikroorganismen im Labor:

Petrischalen auf Oberflächen
RGs (5 ml) oder
Erlenmeyerkolben
(mit/ohne Schikane)
50 ml bis ca. 1 L Volumen

Fermenter,
insbesondere für große Volumina, bis zu einigen zehntausend Litern



Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006



Chemostat-Kultur (Kontinuierliche Kultur)

Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

Chemostat

Gerät zur Herstellung einer kontinuierlichen Kultur (schematische Darstellung)

Die **Populationsdichte** wird durch die Konzentration des wachstums-hemmenden Nährstoffs im Behälter kontrolliert

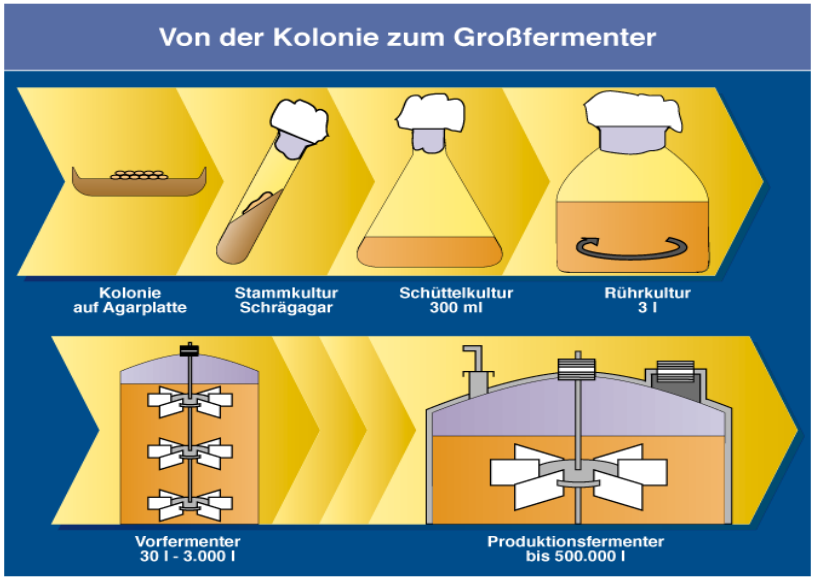
Die **Wachstums-geschwindigkeit** wird durch die Flussgeschwindigkeit kontrolliert

Fermenter zur Bereitstellung von großen Mengen an Biomaterialien
Unterschiedliche Maßstäbe:
Von 1 Liter bis mehrere hunderttausend Liter

Deutsche Hefewerke, Hamburg
200.000 l Volumen

30 l Fermenter der Firma Braun

1 l Bioreaktor, greenovation



Je größer das Endvolumen, desto mehr upscaling Schritte sind erforderlich
z.B. Bierbrauerei, Essig-Produktion, Hefeproduktion….

Zusammensetzung von Nährmedien

Man unterscheidet
- **Vollmedien** (komplexe Medien)

- **Mineralmedien** (definierte Medien)

Makro- und **Mikroelemente**
C,O,H,N,S, P,

Mg, Ca, Fe, K, Na, Cl

Spuren-elemente (orange)

1 H 1,008																	2 He
3 Li	4 Be											5 B 10,81	6 C 12,01	7 N 14,01	8 O 16,00	9 F 19,00	10 Ne
11 Na 22,99	12 Mg 24,30											13 Al 26,98	14 Si 28,09	15 P 30,97	16 S 32,07	17 Cl 35,45	18 Ar
19 K 39,10	20 Ca 40,08	21 Sc	22 Ti	23 V 50,94	24 Cr 52,00	25 Mn 54,94	26 Fe 55,85	27 Co 58,93	28 Ni 58,69	29 Cu 63,55	30 Zn 65,39	31 Ga 69,72	32 Ge	33 As 74,92	34 Se 78,96	35 Br 79,90	36 Kr
37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo 95,94	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I 126,9	54 Xe
55 Cs	56 Ba	La-Lu	72 Hf	73 Ta	74 W 183,8	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn
87 Fr	88 Ra	Ac-Lr	104 Rf	105 Db	106 Sg	107 Bh	108 Hs	109 Mt	110 Ds	111 Uuu	112 Uub						

Lanthanoide

Actinoide

Ohne Farbe: unbekannt oder toxisch

Aus Müller-Esterl, *Biochemie*, © 2004 Elsevier GmbH

Nährstoffansprüche sind oft komplex:
Mikroorganismen benötigen Cofaktoren, Vitamine, AS oder andere Zusätze (z.B. Blut, Brain, Hefeextrakt etc.) zum Medium

Darüber hinaus sind folgende Parameter immer wichtig für ein optimales Wachstum:

- Verhältnis zum Sauerstoff
- Temperatur
- pH
- Salzkonzentrationen

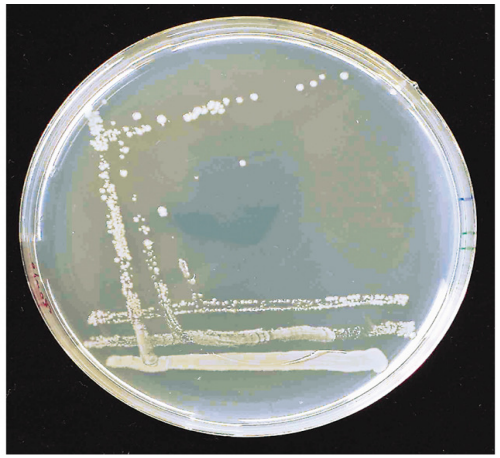
Tabelle 5.4

Beispiele für Kulturmedien für Mikroorganismen mit geringen und hohen Nährstoffansprüchen[a]

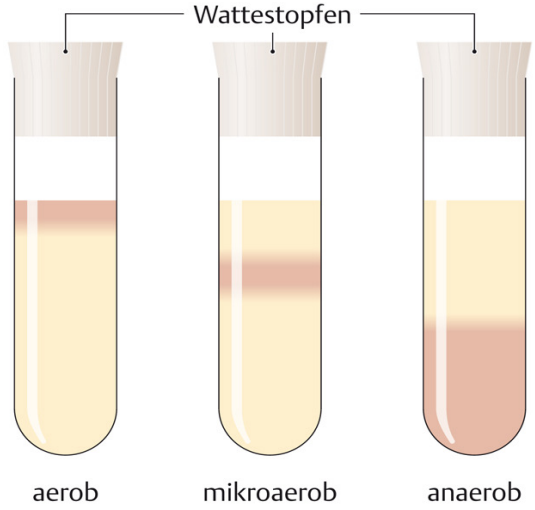
Definiertes Kulturmedium für *Escherichia coli*	Definiertes Kulturmedium für *Leuconostoc mesenteroides*	Komplexes Kulturmedium entweder für *E. coli* oder *L. mesenteroides*
K_2HPO_4 7g	K_2HPO_4 0,6g	Glucose 15g
KH_2PO_4 2g	KH_2PO_4 0,6g	Hefeextrakt 5g
$(NH_4)_2SO_4$ 1g	NH_4Cl 3g	Pepton 5g
$MgSO_4$ 0,1g	$MgSO_4$ 0,1g	KH_2PO_4 2g
$CaCl_2$ 0,02g	Glucose 25g	
Glucose 4 – 10g	Natriumacetat 20g	
Spurenelemente (Fe, Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo) jeweils 2 – 10µg	Aminosäuren (Alanin, Arginin, Asparagin, Aspartat, Cystein, Glutamat, Glutamin, Glycin, Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Threonin, Tryptophan, Tyrosin, Valin) jeweils 100 – 200µg Purine und Pyrimidine (Adenin, Guanin, Uracil, Xanthin) jeweils 10mg Vitamine (Biotin, Folsäure, Nikotinsäure, Pyridoxal, Pyridoxamin, Pyridoxin, Riboflavin, Thiamin, Pantothenat, *p*-Aminobenzoesäure) jeweils 0,01 – 1mg Spurenelemente (siehe erste Spalte) jeweils 2 – 10 µm	
(a)		*(b)*
Destilliertes Wasser 1.000 ml pH 7	Destilliertes Wasser 1.000 ml pH 7	Destilliertes Wasser 1.000 ml pH 7

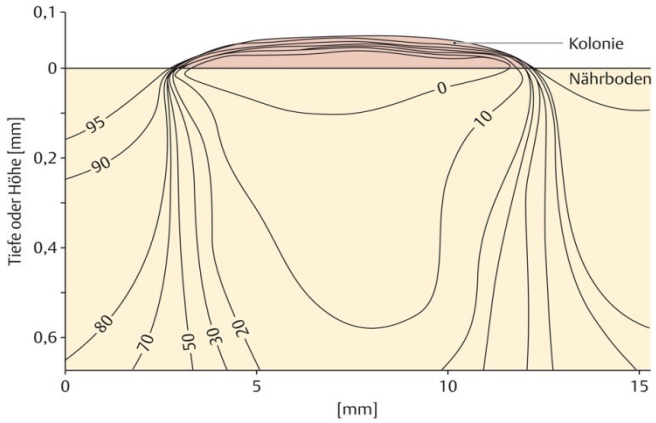
[a] Die Fotos zeigen Röhrchen mit (a) dem beschriebenen, definierten Medium und (b) dem beschriebenen, komplexen Medium. Beachten Sie, wie das komplexe Medium durch die verschiedenen enthaltenen organischen Extrakte und Abbauprodukte gefärbt ist. Die Fotos wurden von Cheryl L. Broadie und John Vercillo zur Verfügung gestellt, Southern Illinois University at Carbondale.

- aerob
- anaerob
- strikt/obligat anaerob
- mikroaerob
- fakultativ aerob/anaerob



Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006





Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

Das Exzellenzcluster "Ozean der Zukunft" untersucht auch Organismen, die ohne Sauerstoff auskommen. Hier ein Nährboden im anaeroben Zelt.
Copyright: CAU, Foto: Jürgen Haacks

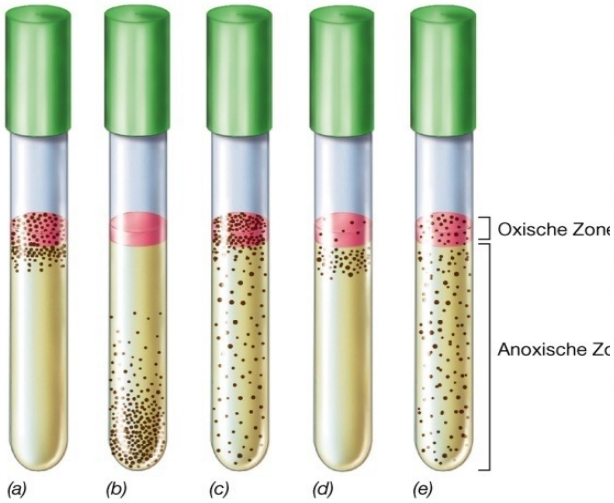
Verhältnis zum Sauerstoff:

mikroaerophil, bei niedrigem O_2-Partialdruck: ***Corynebacterium glutamicum***

obligat/strikt aerob, O_2 ist essentiell für Energiegewinnung: ***Micrococcus luteus***

obligat/strikt anaerob, wächst nur in Abwesenheit von O_2: ***Bacteroides fragilis***

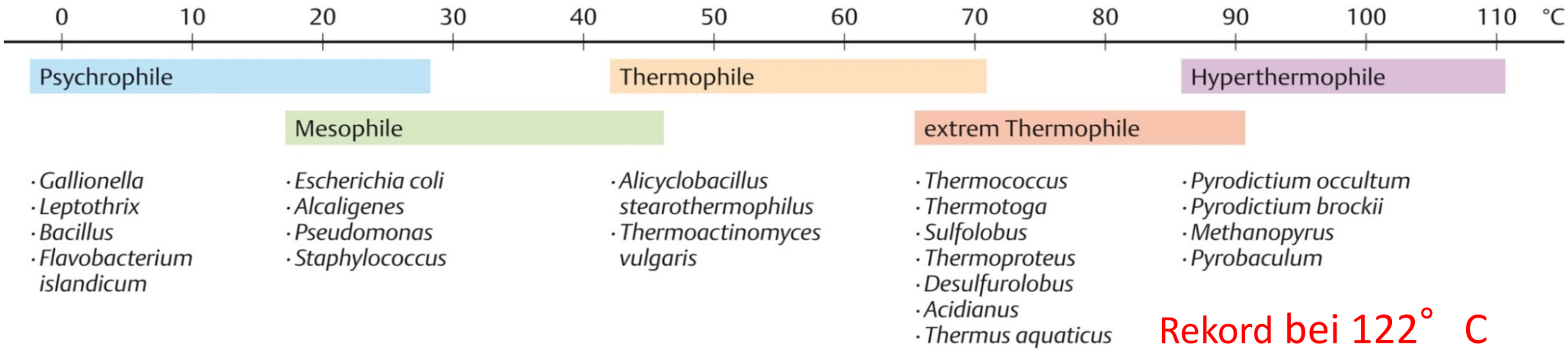
fakultativ aerob, kann unterschiedliche Elektronenakzeptoren verwenden: ***Escherichia coli***



(a)

(b)

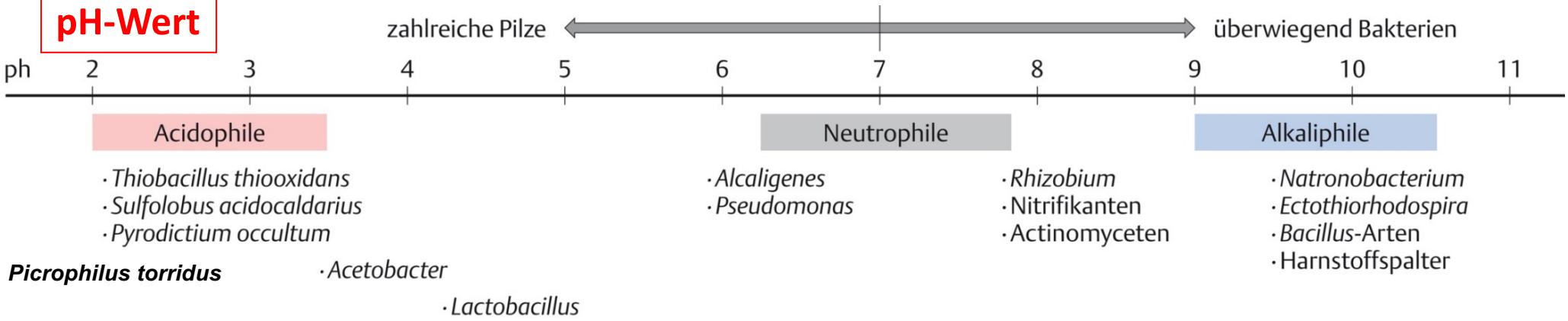
Temperatur



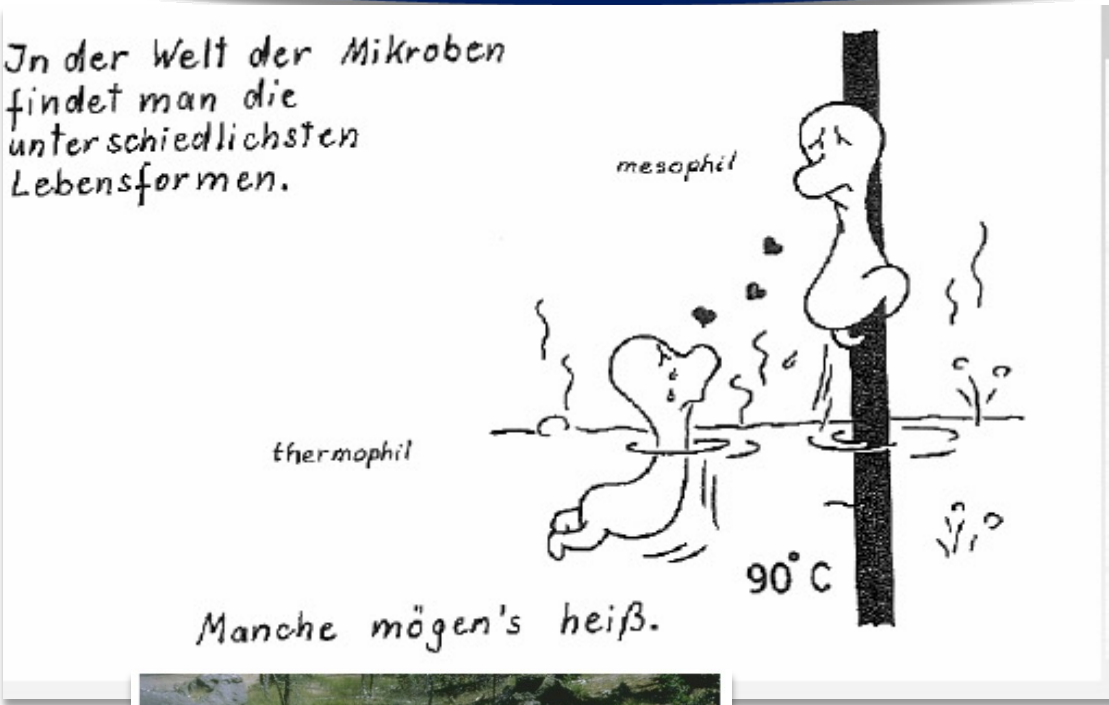
Rekord bei 122° C

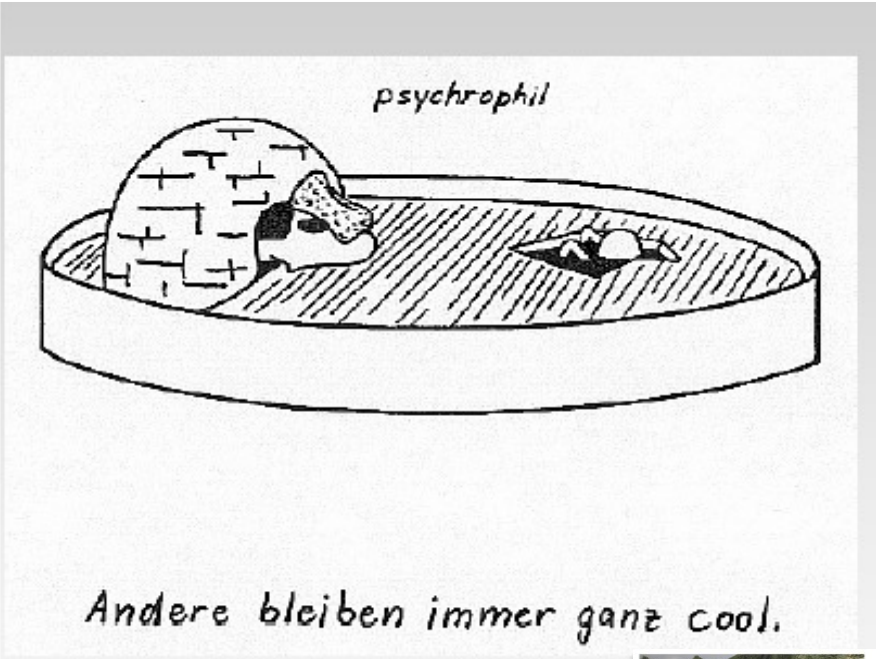
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

pH-Wert

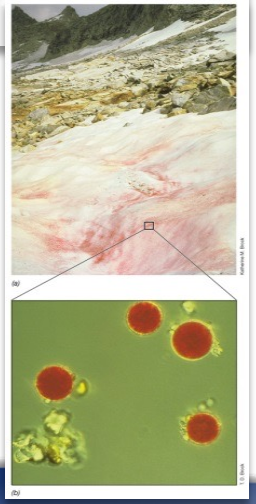


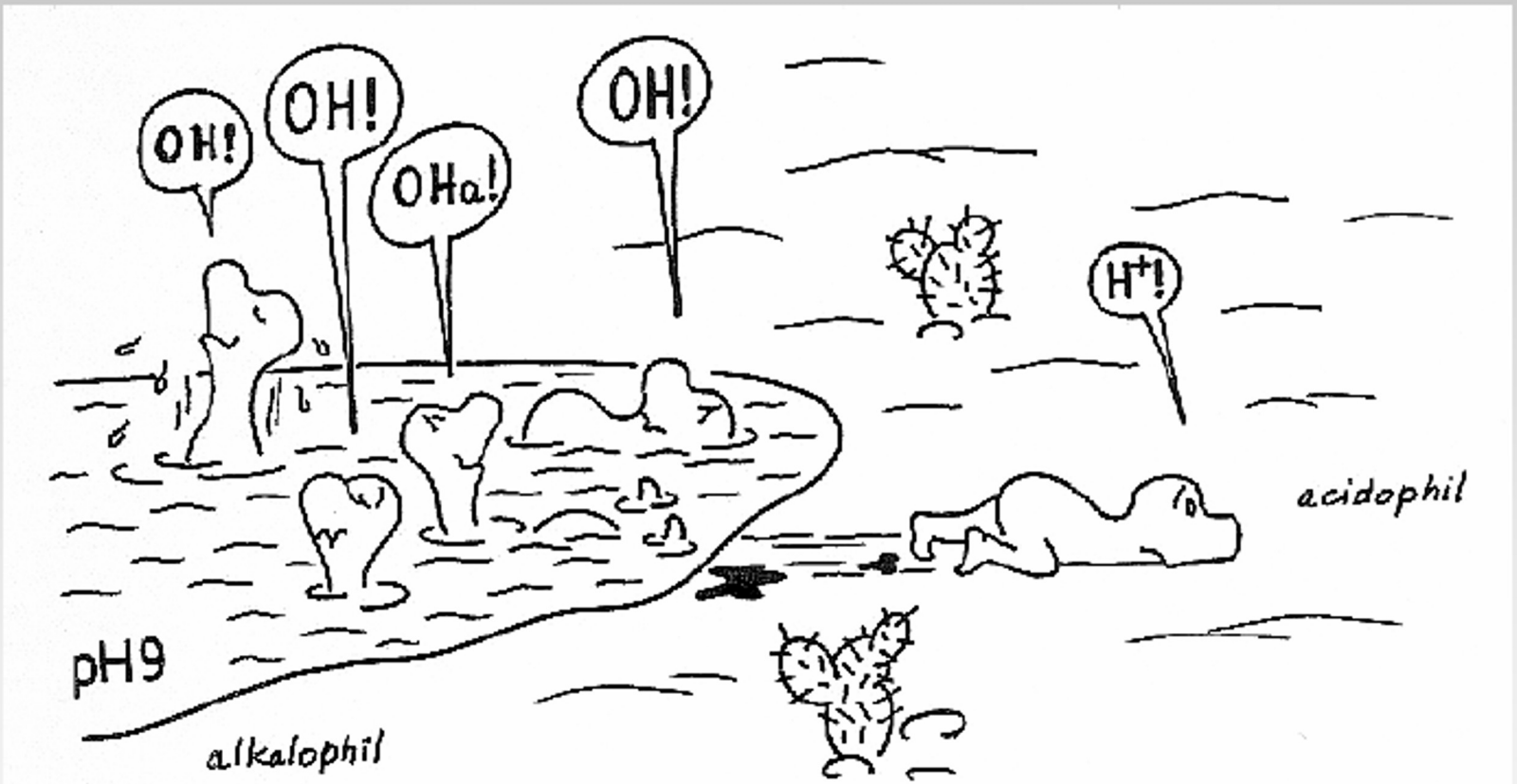
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006



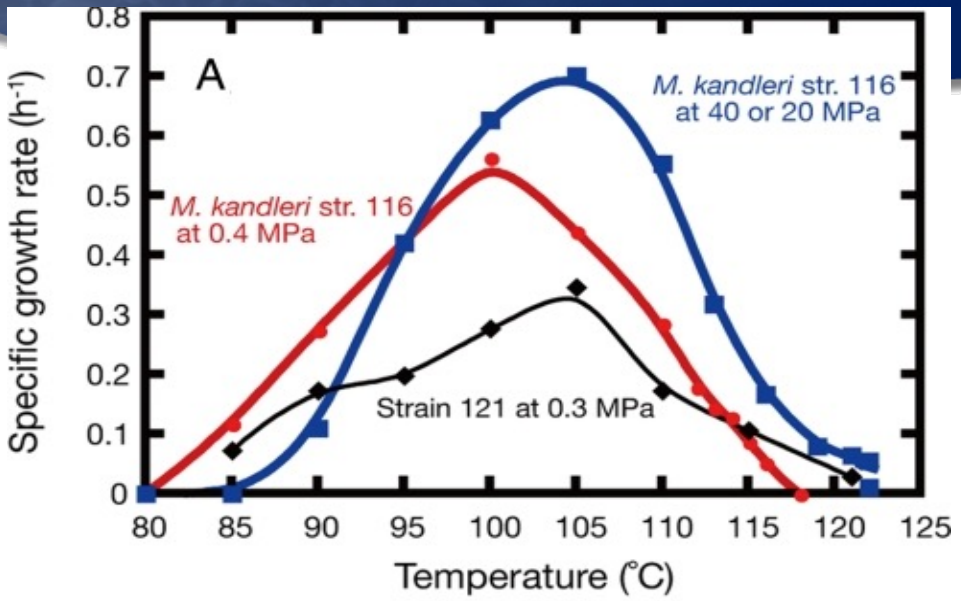


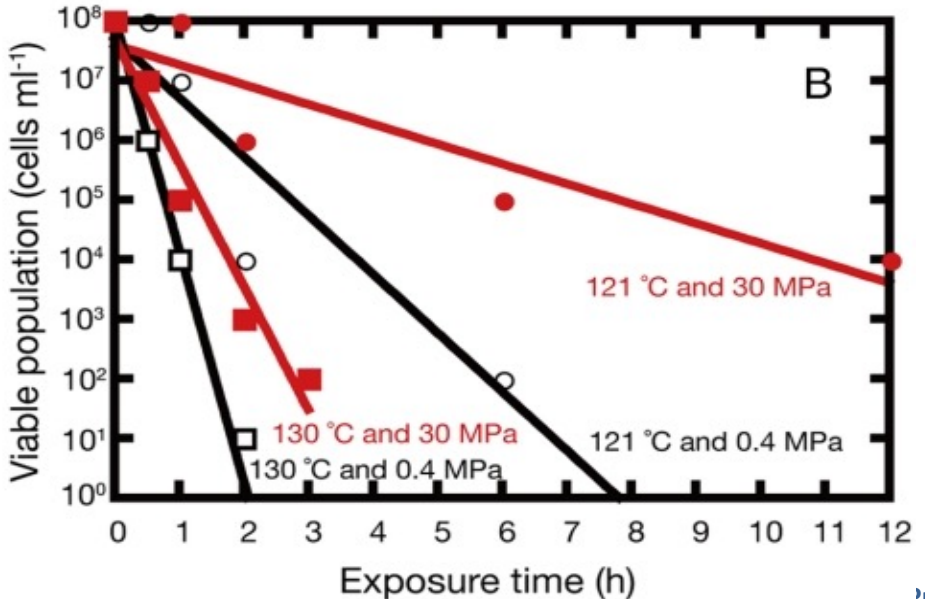
rotpigmentierten Sporen
der Schneealge
***Chlamydomonas nivalis*.**

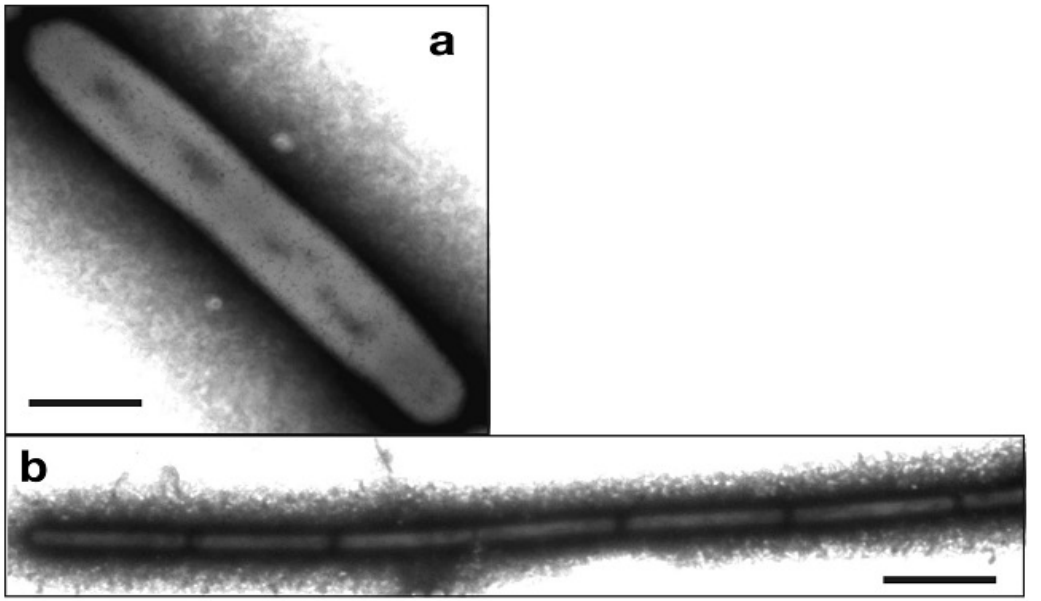




Die einen lieben es alkalisch,
die anderen werden erst im Sauren lustig.







ig. S3. Electron micrographs of *M. kandleri* strain 116. (*a*) A singly occurred cell in the late exponential growth phase. (*b*) Typical long connected cells (

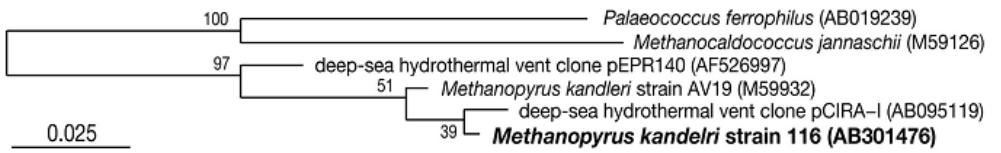


Fig. S4. Phylogenetic tree of representative *Methanopyrus* strains and related environmental rRNA gene clones. The tree is constructed by the neighbor-joining method based on 961 homologous positions. Number at a branch indicates a bootstrap value (100 replicates). Bar shows 0.025 nucleotide substitution per position.

Methanopyrus kandleri

T. D. Brock

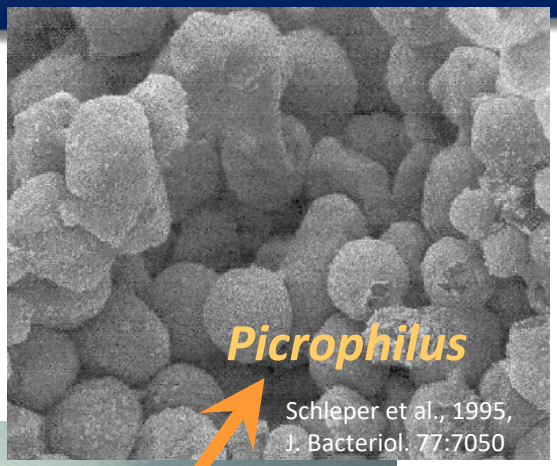
(c)

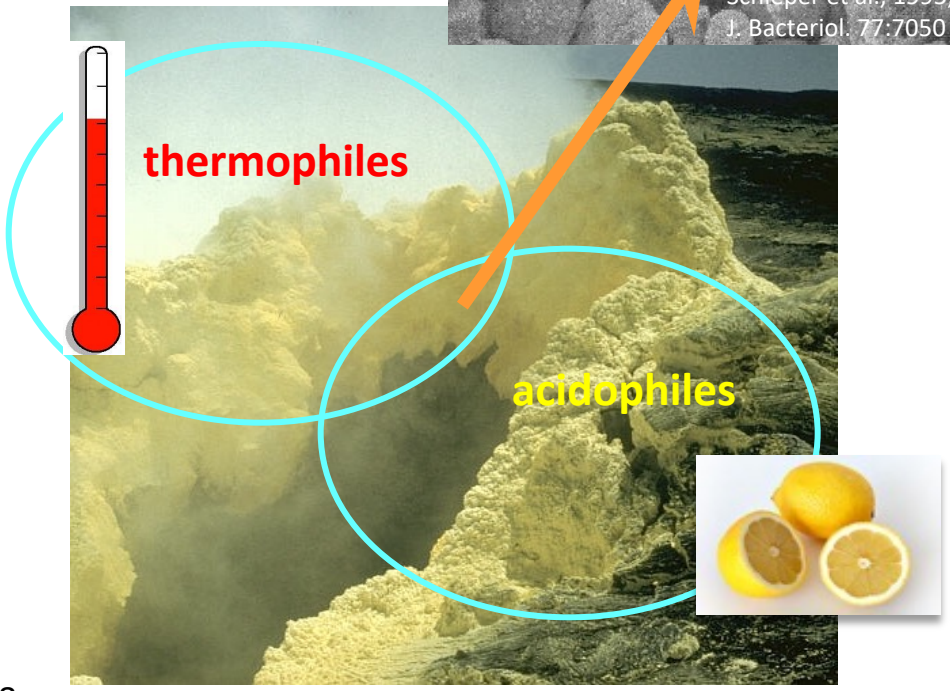
T. D. Brock

(b)

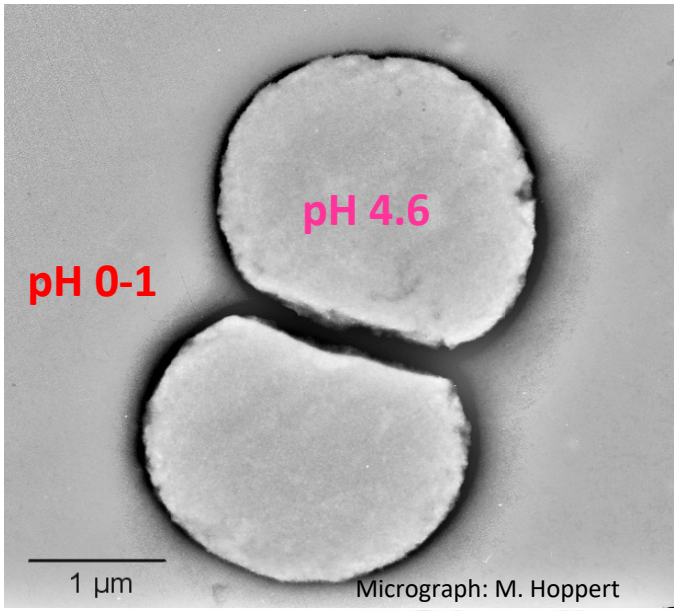
T. D. Brock

(a)

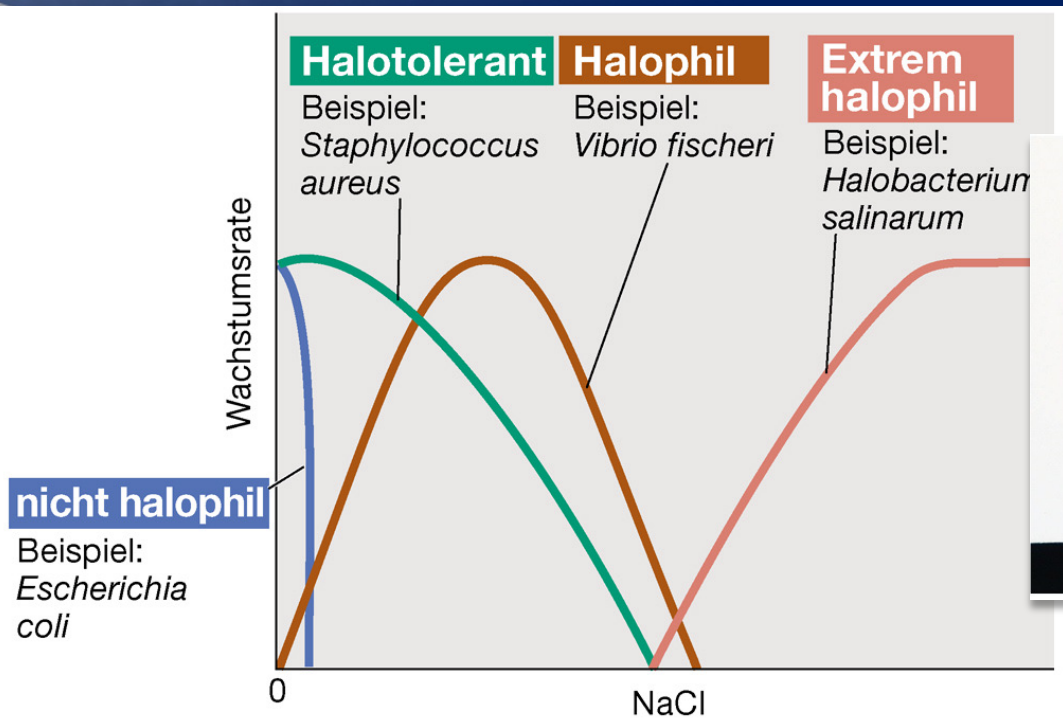


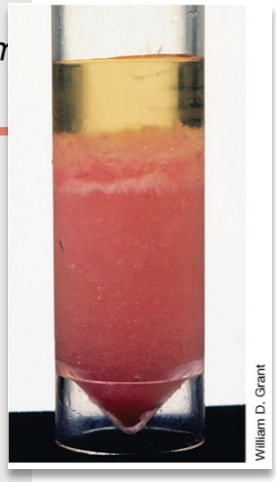


Einige mögen es sauer!



Picrophilus torridus





Extrem halophile *Archaea*

Ein Röhrchen mit einer Salzlösung mit ausgefallenem NaCl, das Zellen des extrem halophilen ***Halobacteriums*** enthält.

Der Organismus enthält Pigmente, die Licht absorbieren und zur ATP-Bildung führen.

Halobacterium-Zellen können auch in Salzkristallen leben.

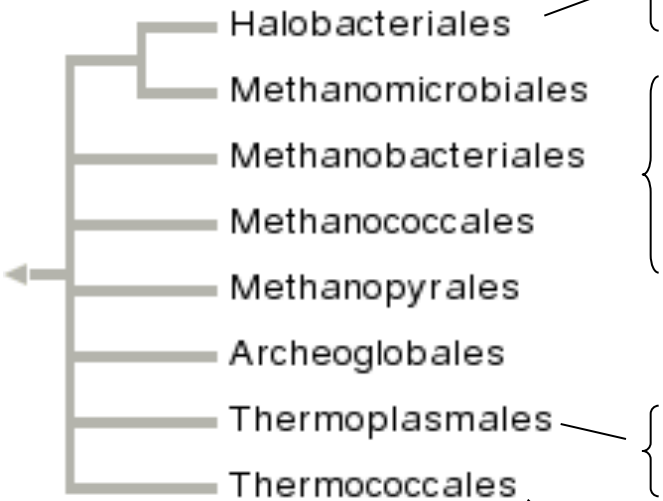
Wachstum bis zu sehr hohen Konzentrationen möglich; selbst in gesättigten Lösungen

15-30 % oder 2,6- 5,2 mol/l

Beispiel: ***Halobacterium salinarum***

osmophil / osmotolerant

Euryarchaeota



Hohe Salzkonz.

- **Halobacterium** — 5 M NaCl
- **Haloarcula** — 5 M NaCl

extrem Sauerstoff sensitiv

- **Methanobacterium**
- **Methanococcus**
- **Methanopyrus**
- **Methanosarcina**

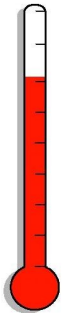
- **Archaeoglobus** — 95 ° C

Tiefer pH

- **Thermoplasma** — 65 ° C — pH = 0.5
- **Picrophilus** — 60 ° C — pH = 0.5

- **Thermococcus** — 97 ° C
- **Pyrococcus** — 100 ° C
- **Pyrobaculum** — 103 ° C

extrem thermophil



Verhältnis zum pH

alkaliphil: ***Bacillus*** oder ***Natronobacterium*** und ***Natronococcus***

acidophil: z.B. ***Thiobacillus*** oder ***Thermoplasma***, MSBs, ***Picrophilus***

neutrophil: die meisten bekannten Mikroorganismen wachsen bei pH7

Verhältnis zum Druck

barotolerant: wächst bei 1 atm, langsamer bei hohem Druck, z.B ***E. coli***

barophil: okay bei 1 atm, aber besser bei höherem Druck: ***Spirillum***; Tiefseebakterium

obligat barophil: wächst nur bei Drücken über 1 atm, Tiefseebakterien

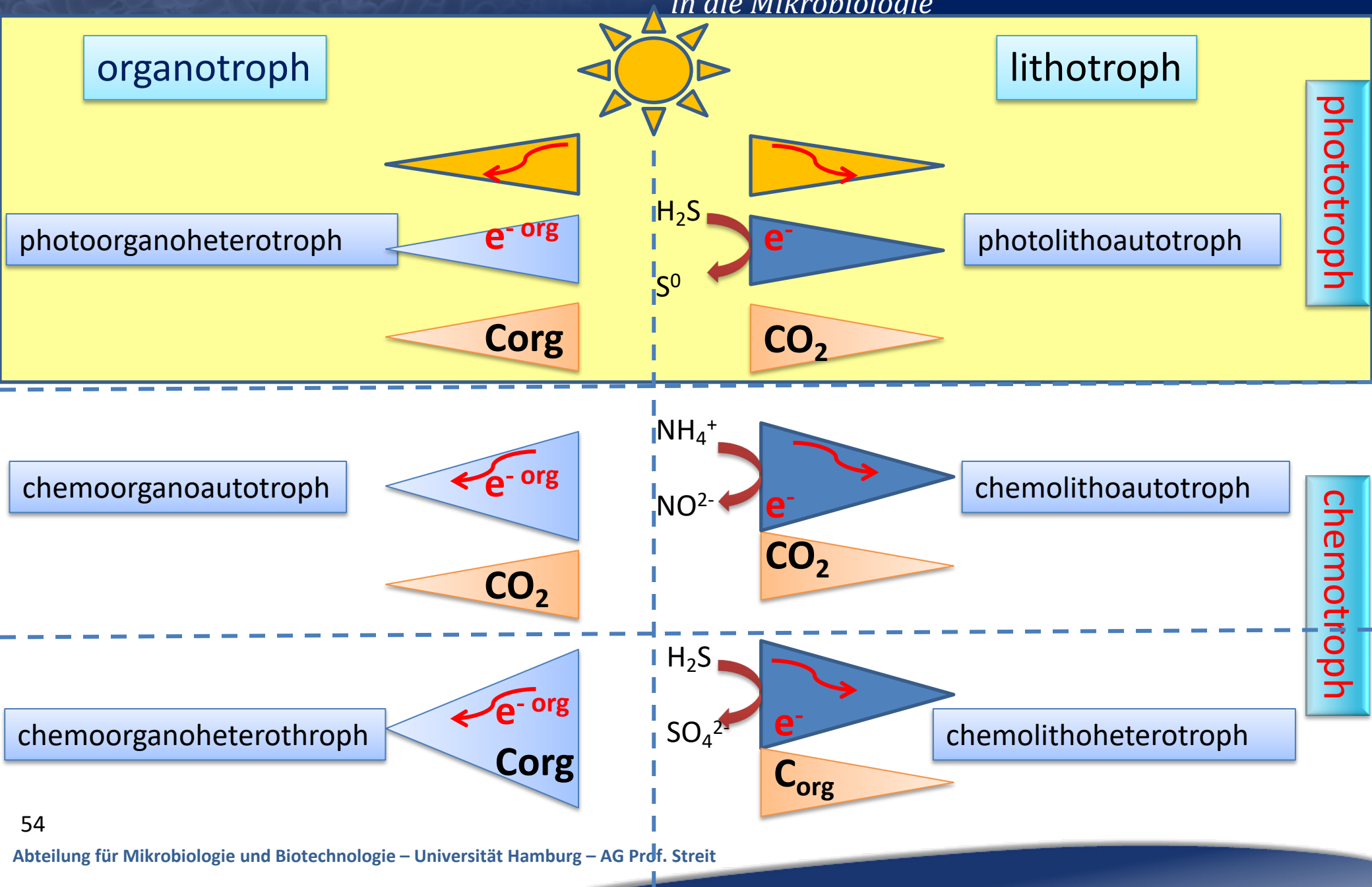
Das hochgradig **strahlungsresistente** Bakterium

Deinococcus radiodurans

Dieser Organismus kann Strahlungsdosen widerstehen, die weit über denen liegen, die einen Menschen töten würden.

In Puncto **Stoffwechsel** unterscheidet man prinzipiell einige Grundtypen. Diese Einteilung basiert auf **Energie-**, **Elektronen-** und **Kohlenstoff**quelle für den Stoffwechsel

Heterotrophe:	Kohlenstoff (C) aus organischem Material
Autotrophe:	C aus anorganischem Material
Organotrophe:	Elektronen (e^-) aus org. Material für Stoffwechsel
Lithotrophe:	Elektronen (e^-) aus anorg. Material für Stoffwechsel
Phototrophe:	Energie aus Licht
Chemotrophe:	Energie aus chemischen Reaktionen


organotroph
lithotroph
phototroph
photoorganoheterotroph
photolithoautotroph
H_2S
S^0
e^- org
e^-
Corg
CO_2
chemoorganoautotroph
chemolithoautotroph
NH_4^+
NO^{2-}
chemoorganoheterothroph
chemolithoheterotroph
SO_4^{2-}
C_{org}
chemotroph

Es gibt zwei grundsätzlich Typen der **Energiegewinnung**

- Substrat-Stufen-Phosphorylierung in der Zelle und nicht an/in der Membran

Oxidation eines organischen Moleküls und direkte Übertragung der Protonen auf ein weiteres organisches Molekül (NAD(P)H ist dabei nur ein Intermediat).

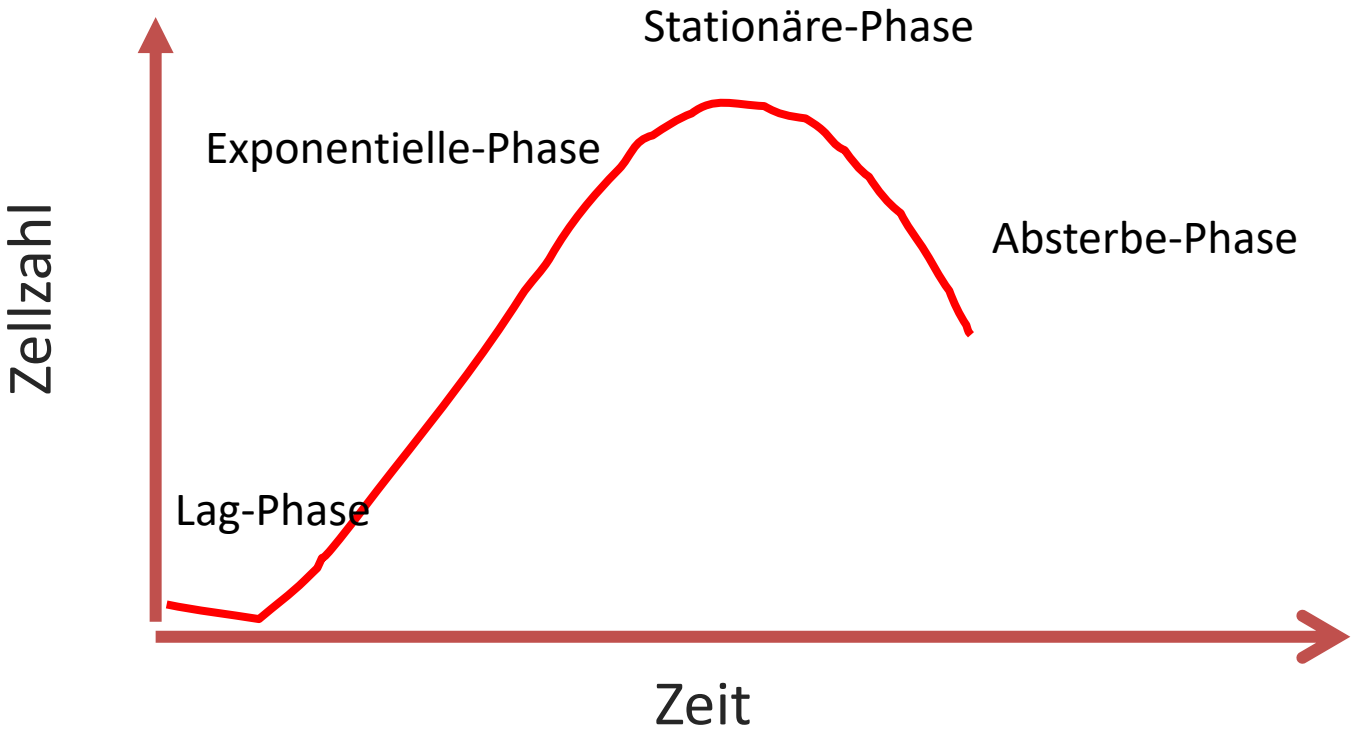
- Ionen-Gradienten an einer Membran

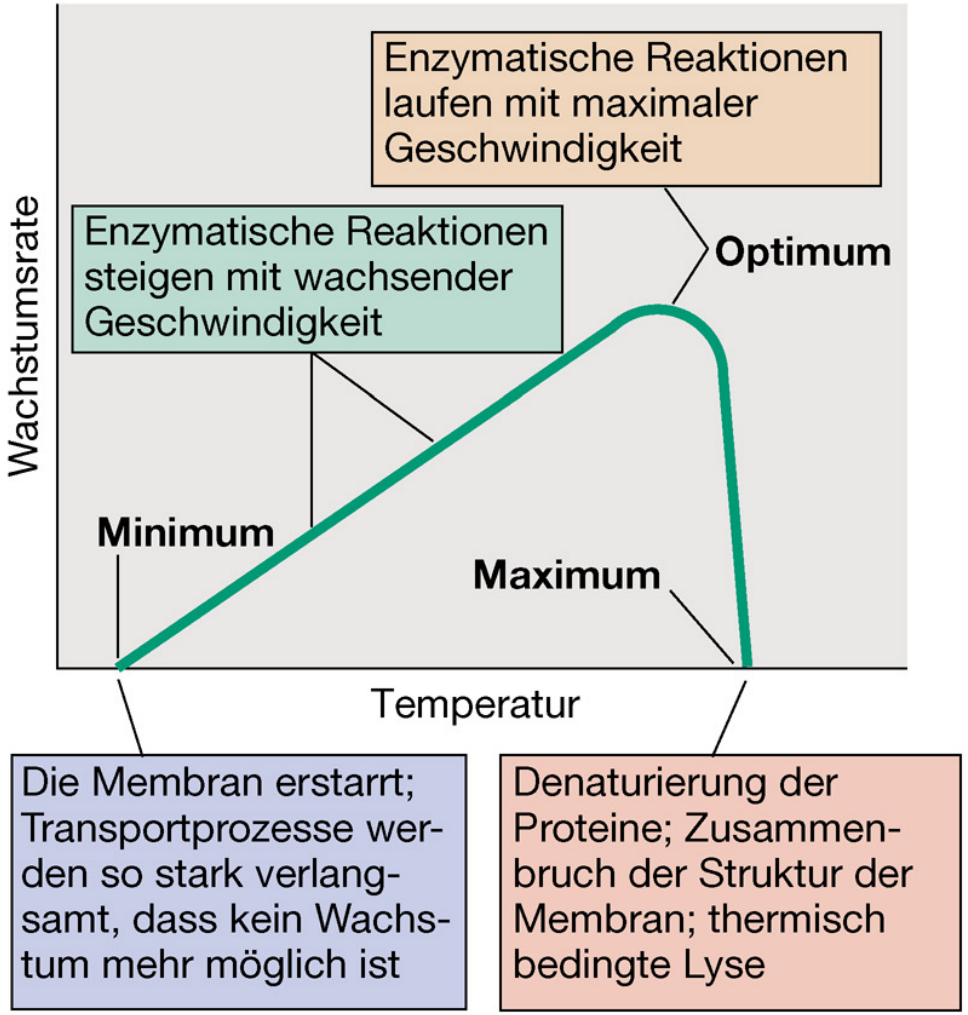
Variante 1: Atmung, Aufbau eines Protonengradienten durch die Atmungskette, also aerob Elektronenentransportkette (ETP)

Variante 2: Enzymatische Pumpen, die nicht Teil einer ETP sind.

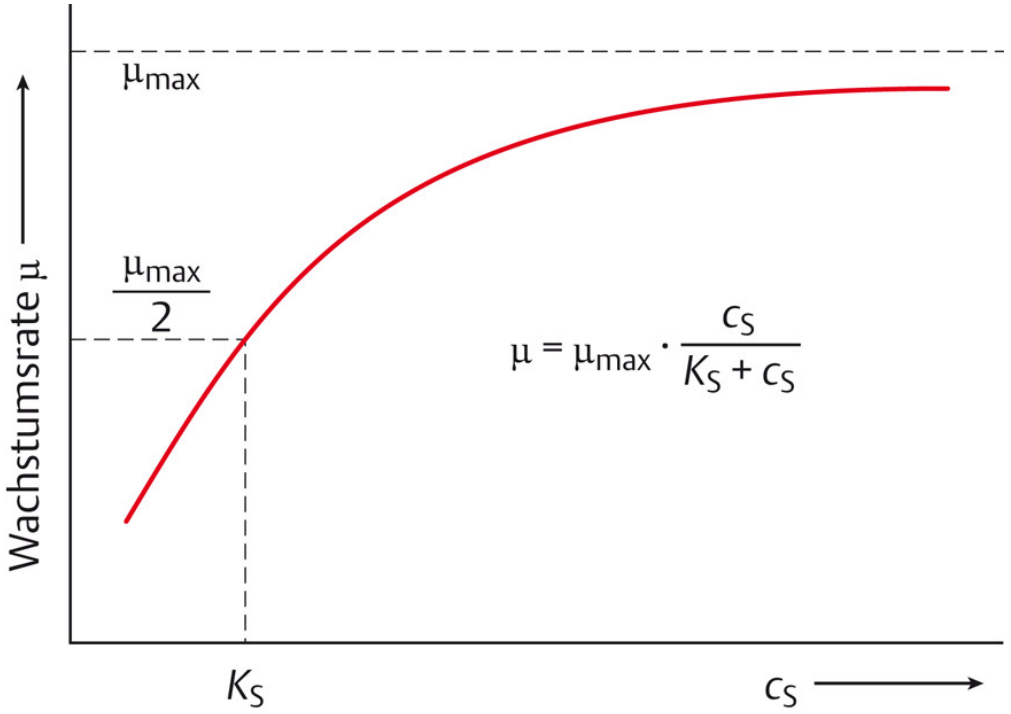
Variante 3: Mit Hilfe von Lichtenergie; Photosynthese-getriebener Aufbau von Membranpotentialen

Mikrobielles Wachstum

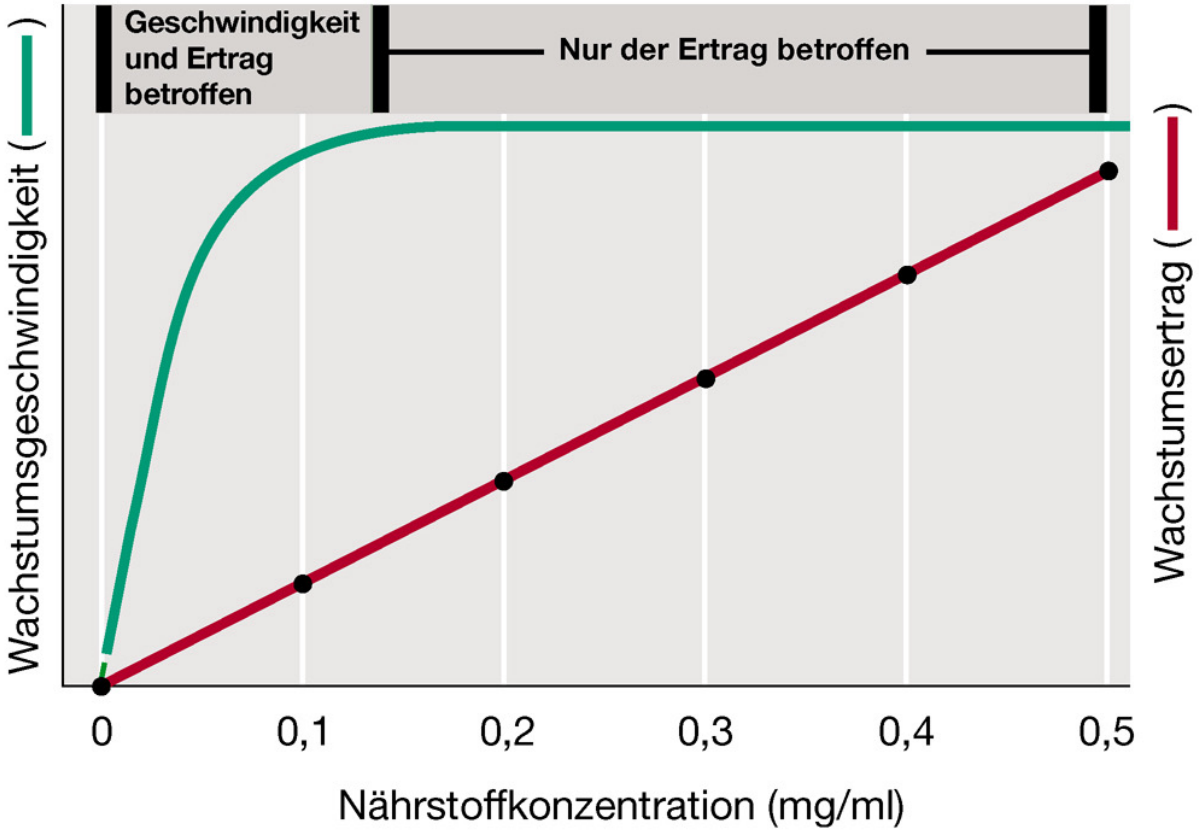



Enzymatische Reaktionen laufen mit maximaler Geschwindigkeit
Optimum
Enzymatische Reaktionen steigen mit wachsender Geschwindigkeit
Wachstumsrate
Minimum
Maximum
Temperatur
Die Membran erstarrt; Transportprozesse werden so stark verlangsamt, dass kein Wachstum mehr möglich ist
Denaturierung der Proteine; Zusammenbruch der Struktur der Membran; thermisch bedingte Lyse

Wachstum folgt unter Idealbedingungen einer **Michaelis-Menten Kinetik**



Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006



Wachstums-geschwindigkeit und Ertrag sind in gewissen Grenzen direkt proportional zur Nährstoffkonzentration

Funktioniert nur in der exponentiellen Phase!

G **entspricht der Generationszeit -**
also der benötigten Zeit, um von 10 Zellen auf 20 Zellen zu kommen (G=t/n)

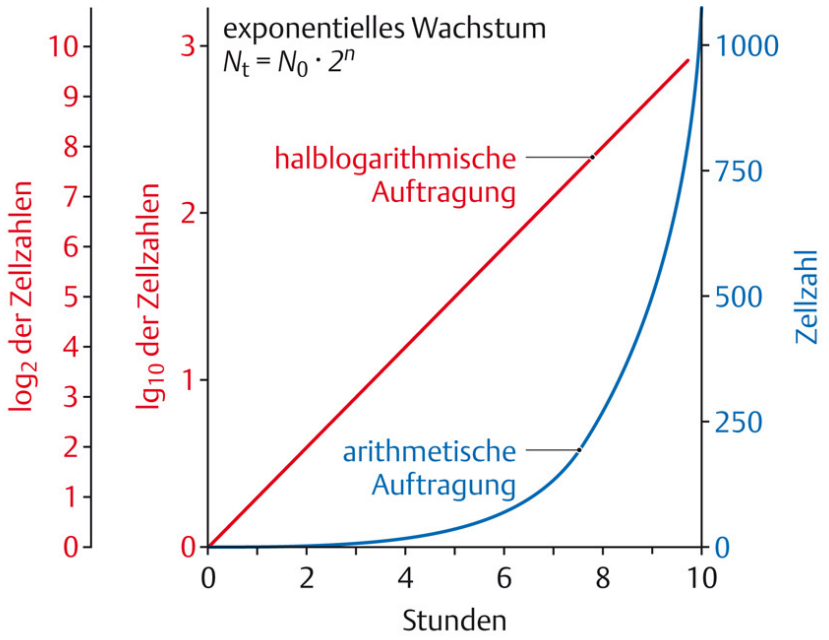
μ **entspricht der Wachstumskonstanten -**
also der Veränderung der Zellzahl pro Zeit
(μ = ln2/G)

V **entspricht dabei der Teilungsrate** **V= n/t**

N **entspricht der Anzahl der Teilungen**

$$N = \lg N - \lg N_o / \lg 2$$

Teilung/N	Zeit/t (min)	Zellzahl
1	20	2
2	40	4
3	60	8
4	80	16
5	100	32



Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

Auftragung auf der Y-Achse unterschiedlich!

arithmetisch vs. **logarithmisch**

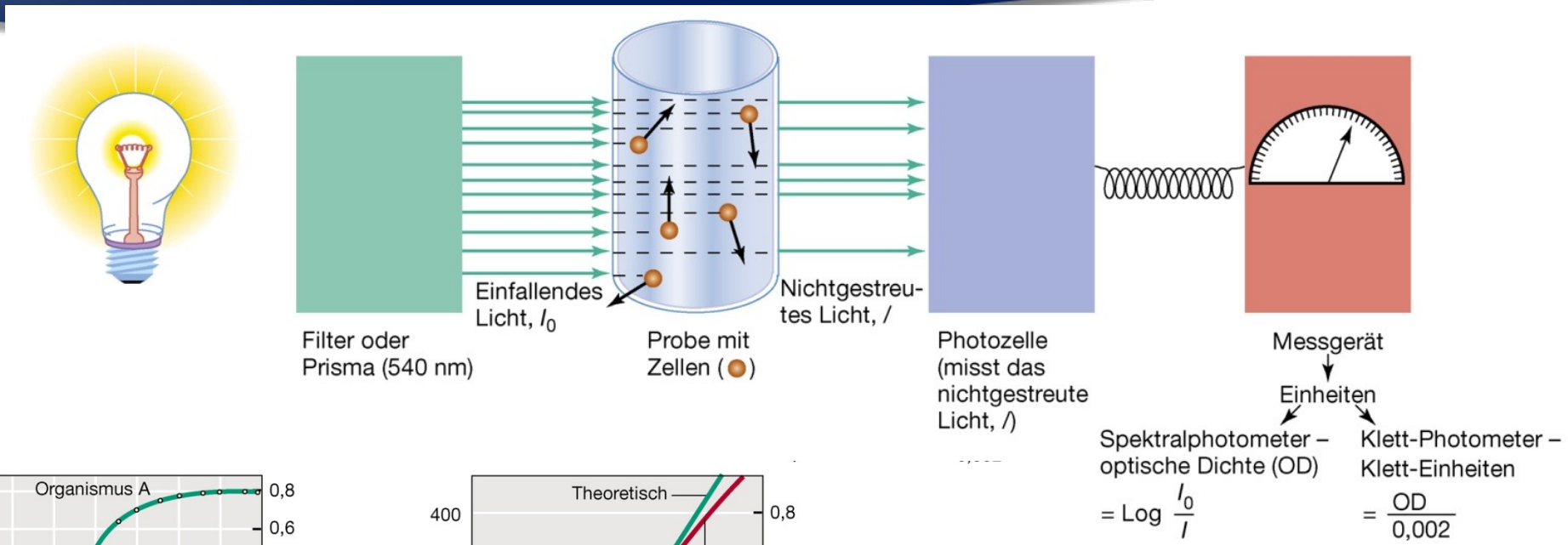
Exponentielles Wachstum von Mikroorganismen auf Lebensmitteln Kann nach wenigen Stunden fatale Folgen haben

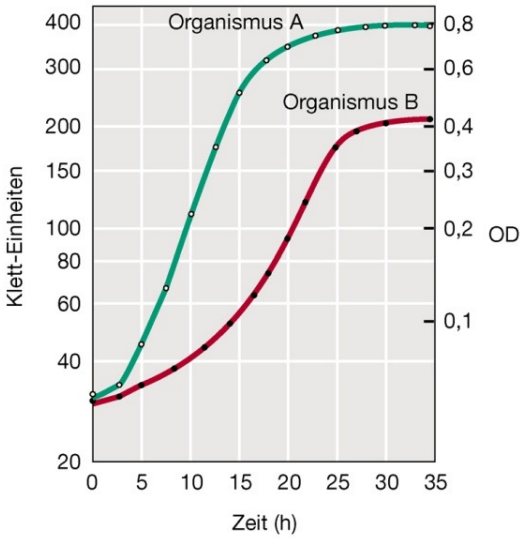
Organismus	Temperatur (° C)	Generationszeit (min)
Escherichia coli	**37**	**20**
Bacillus subtilis	**40**	**26**
Pseudomonas putida	**30**	**45**
Vibrio marinus	**15**	**81**
Rhizobium meliloti	**28**	**110**
Rhodobacter sphaeroides	**30**	**132**
Nitrobacter agilis	**27**	**1200 (20 h)**

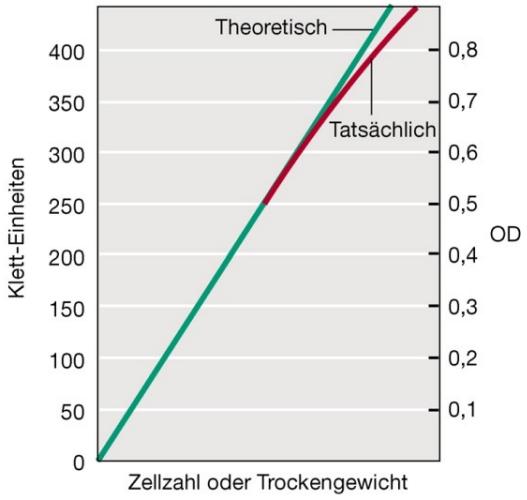
Unterschiedliche Organismen haben unterschiedliche Generationszeiten

Wie kann man mikrobielles Wachstum eigentlich messen?

- Bestimmung von **Lebendzellzahlen** (**CFU** colony forming units)
- **Gesamtzellzahlen**
- **Optische Dichte/Trübung**
- **DNA/RNA-Gehalt**?
- Bestimmung des **Proteingehaltes**
- **ATP-Gehalt**
- Andere Methoden?







Photometrische Bestimmungen der **Zelldichte** beruhen auf einfachen Trübungsmessungen

Lambert Beersches Gesetz

Die Schwächung eines Lichtstrahls bei Durchgang durch eine Lösung ist abhängig von:

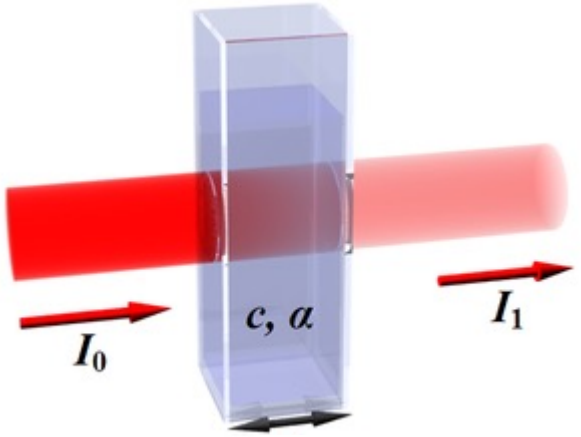
c: Konzentration der „Lösung“ (mol/L)

d: Schichtdicke der Küvette (Wegstrecke des Lichtes) (cm)

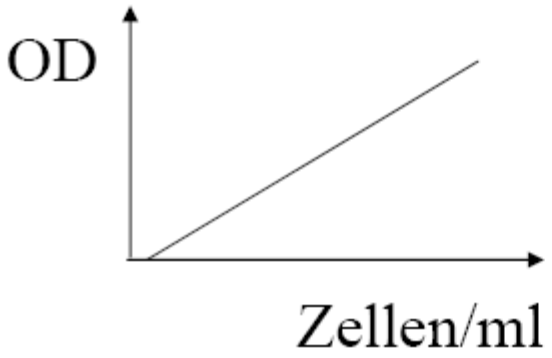
ε: Extinktionskoeffizient der Lsg (l/mol x cm)

E: Extinktion

Λ: Wellenlänge (nm)



$$E_\lambda = - \lg (I / I_o) = c \times \varepsilon \times d$$



$$\frac{I}{I_o} = 10^{-xl}$$

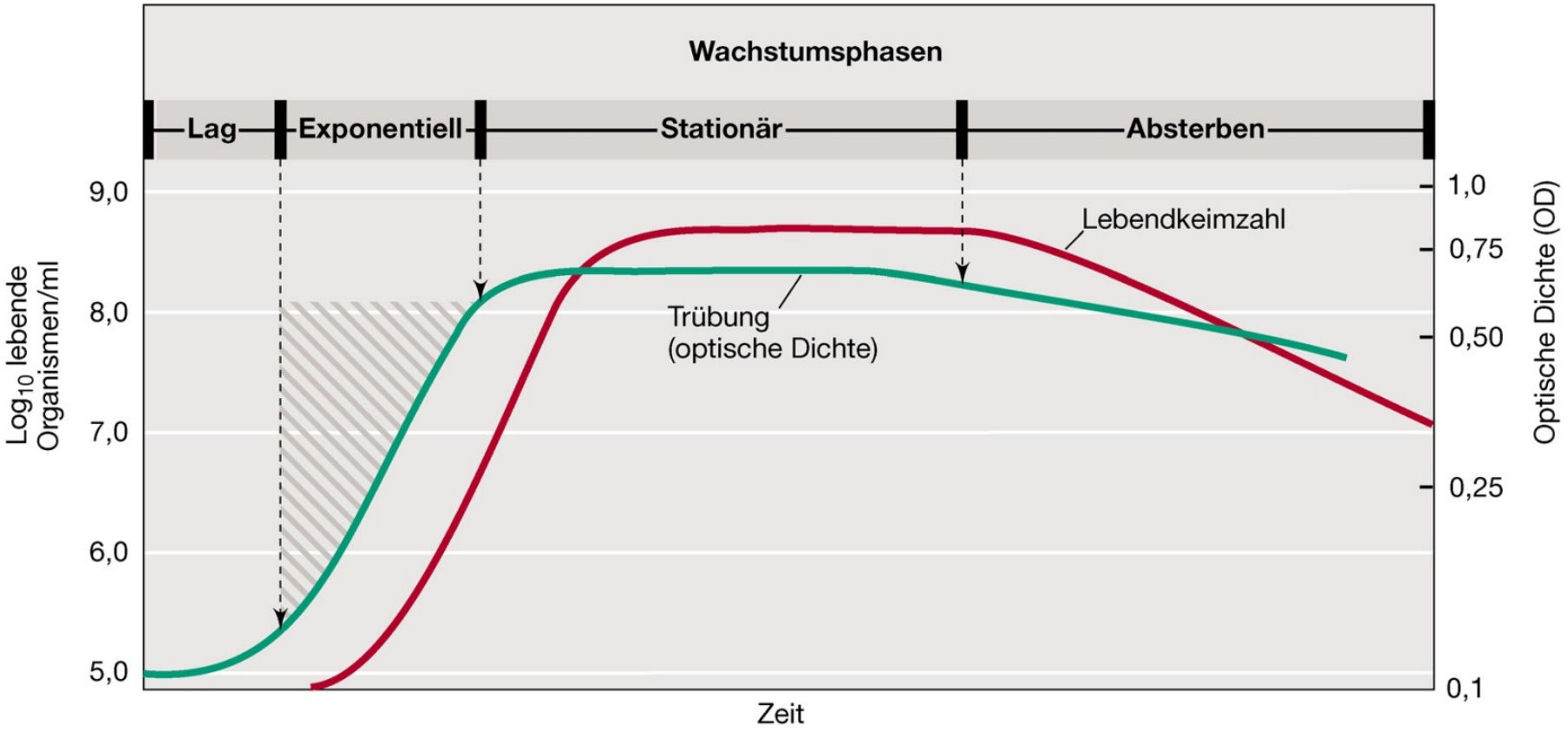
$$\log_{10}\left[\frac{I}{I_o}\right] = -xl$$

$$xl = OD = \log_{10}\left[\frac{I_o}{I}\right]$$

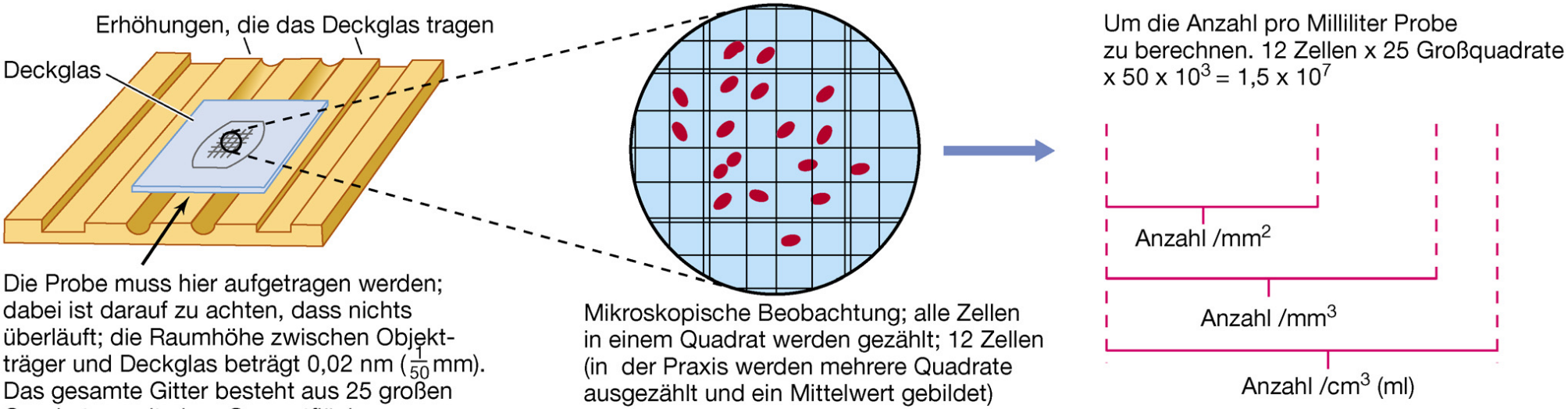
$\frac{I}{I_o}$ Anteil des durchdringenden Lichtes

I_o einfallendes Licht
I durchdringendes Licht
x Dichte der Kultur
l Lichtweg (cm)

1



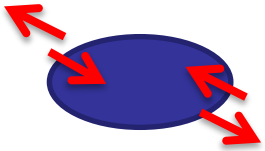
Es gibt eine Diskrepanz zwischen OD-Messungen und LZZ-Bestimmungen!
OD Messungen sind nur bis zu einer OD von 0,5 akzeptabel. Höhere Werte müssen verdünnt werden.


Erhöhungen, die das Deckglas tragen
Deckglas
Die Probe muss hier aufgetragen werden; dabei ist darauf zu achten, dass nichts überläuft; die Raumhöhe zwischen Objekt-träger und Deckglas beträgt 0,02 nm ($\frac{1}{50}$ mm). Das gesamte Gitter besteht aus 25 großen Quadraten, mit einer Gesamtfläche von 1 mm^2 und einem Gesamtvolumen von 0,02 mm^3.
Mikroskopische Beobachtung; alle Zellen in einem Quadrat werden gezählt; 12 Zellen (in der Praxis werden mehrere Quadrate ausgezählt und ein Mittelwert gebildet)
Um die Anzahl pro Milliliter Probe zu berechnen. 12 Zellen x 25 Großquadrate x 50 x 10^3 = 1,5 x 10^7
Anzahl /mm^2
Anzahl /mm^3
Anzahl /cm^3 (ml)

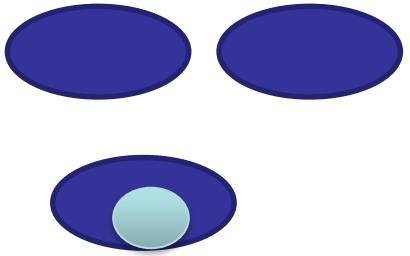
Das direkte mikroskopische Zählverfahren unter Verwendung einer Zählkammer liefert die Gesamtzellzahl (lebende und tote Zellen)

Ausplattieren liefert dagegen die Lebendzellzahl (koloniebildende Einheiten KBE – colony forming untits CFU)

Lebende Systeme

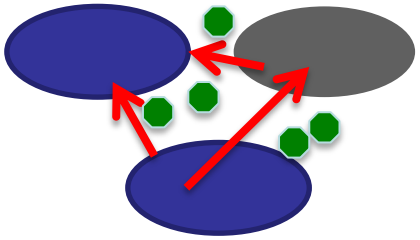


Metabolismus
Aufnahme von Nährstoffen, Metaboliten, Transformation und Ausschleusen: Offenes System



Reproduktion:
Metabolite, Nährstoffe werden zum Zellwachstum verwendet

Differenzierung
Bildung neuer oder anderer Zellstrukturen und -formen
(z.B. Sporen, Biofilme)



Kommunikation
Zell-Zellkommunikation mittels chemischer Signalmoleküle